

MÔNICA BEATRIZ PAROLIN

HEPATITE C EM HEMODIALISADOS
CORRELAÇÃO DE ACHADOS BIOQUÍMICOS
E HISTOPATOLÓGICOS

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Werneck Lopes.

Co-orientador: Prof. Dr. José Ederaldo Queiroz Telles.

CURITIBA

1996

Dedico

a meus pais, pela importância que representam em minha vida!
à Lilian, minha maior amiga!

Dedico

aos pacientes, cuja vida de sofrimento tocou-me profundamente. Vítimas de uma condição grave e incurável, padecem nas unidades de diálise à espera de um transplante renal, nem sempre possível. Não bastasse o sofrimento da própria doença, são muitas vezes penalizados pelas complicações da hemodiálise, dentre elas a que possibilitou este trabalho.

A piedade torna suas as dores alheias...

Stahl

Agradecimentos

Nenhum trabalho é obra de uma pessoa só.

Este agradecimento se estende a todos que de maneira direta ou indireta auxiliaram na concretização do projeto inicial, trazendo idéias, sugestões e mesmo ações.

Se há mérito nesta obra, deve pertencer a todos que contribuíram para minha formação pessoal e profissional.

Entre muitos a quem, pois, devemos agradecer, citamos especialmente:

- Dr. Reginaldo Werneck Lopes, orientador e sobretudo um grande amigo.
- Dr. José Ederaldo Queiroz Telles, pelo dedicado empenho na orientação da histologia.
- Dr. Miguel Carlos Riella, Chefe do Serviço de Nefrologia do Hospital Evangélico de Curitiba, incentivador incansável de pesquisas médicas e exemplar modelo acadêmico.
- Dr. Luiz Renato Teixeira de Freitas, Chefe do Serviço de Endoscopia do Hospital de Clínicas, pelo seu inestimável apoio.
- Dr. Anselmo Chaves, pela valiosa colaboração na avaliação estatística do trabalho.
- Dr. Paulo Afonso Del Claro, pelo constante incentivo e aconselhamento científico.
- Dr^a Lorete Maria da Silva Kotze, a quem muito devemos na Residência Médica.
- Os técnicos do Laboratório de Sorologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.
- Os técnicos do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Evangélico de Curitiba.
- O Laboratório do Hospital da Universidade de Nagoya, na pessoa do Dr. Yoshihide Fukuda, pela realização inicial dos testes ELISA de 2^a geração.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	viii
LISTA DE SIGLAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OBJETIVO	2
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 HEPATITE C	4
2.2 A HEPATITE C EM PACIENTES HEMODIALISADOS CRÔNICOS	21
2.3 HEMODIÁLISE CRÔNICA E O FÍGADO	28
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	30
3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	30
3.2 PACIENTES E MÉTODOS: PRIMEIRA ETAPA	30
3.2.1 Pacientes	30
3.2.2 Testes sorológicos	31
3.3 PACIENTES E MÉTODOS: SEGUNDA ETAPA	32
3.3.1 Pacientes	32
3.3.2 Biopsia hepática	33
3.3.3 Avaliação histológica	34
3.3.4 Testes laboratoriais	36
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
4 RESULTADOS	38
4.1 PRIMEIRA ETAPA	38
4.1.1 Prevalência de anticorpos contra o VHC nos pacientes hemodialisados.....	38
4.2 SEGUNDA ETAPA	39
4.2.1 Características clínicas e bioquímicas dos pacientes hemodialisados anti-VHC positivos acompanhados por seis meses	39
4.2.2 Características clínicas, comportamento dos níveis séricos de ALT e achados histológicos nos 30 pacientes hemodialisados anti-VHC positivos submetidos à biopsia hepática	40

5 DISCUSSÃO	52
5.1 PREVALÊNCIA DA HEPATITE C EM PACIENTES HEMODIALISADOS .	52
5.2 COMPORTAMENTO CLÍNICO E BIOQUÍMICO DA HEPATITE C EM PACIENTES HEMODIALISADOS	59
5.3 ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM BIOPSIAS HEPÁTICAS DE HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ASSINTOMÁTICOS E SUA CORRELAÇÃO COM A ALT	62
6 CONCLUSÕES	72
ANEXOS	
1 ASPECTOS CLÍNICOS E SOROLÓGICOS EM 113 PACIENTES HEMO- DIALISADOS	74
2 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ACOMPA- NHADOS POR SEIS MESES — DADOS CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS ...	77
3 ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS EM BIOPSIAS HEPÁTICAS DE PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

LISTA DE TABELAS

1 GENÓTIPOS E SUBTIPOS DO VHC, SEGUNDO NOMENCLATURA PROPOSTA POR SIMMONDS ET AL. (1994)	7
2 PREVALÊNCIA DE SOROPOSITIVIDADE AO ANTI-VHC EM HEMODIALISADOS CRÔNICOS	23
3 PREVALÊNCIA DE ANTI-VHC EM HEMODIALISADOS POR MÉTODO ELISA 1 E 2 .	24
4 ESTUDO DE 113 PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM PROGRAMA DE HEMODIÁLISE	31
5 ÍNDICE DE ATIVIDADE HISTOLÓGICA (IAH) APLICADO NO PRESENTE ESTUDO .	35
6 SISTEMA DE ESCORE PARA FIBROSE E CIRROSE	35
7 ESTUDO DE 41 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ASSINTOMÁTICOS	39
8 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E BIOQUÍMICAS DOS HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS BIOPSIADOS E NÃO BIOPSIADOS	40
9 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, PERFIL BIOQUÍMICO E DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO NOS HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS SUBMETIDOS À BIOPSIA HEPÁTICA	41
10 GRADUAÇÃO DA ATIVIDADE NECROINFLAMATÓRIA E ESTADIAMENTO NOS CASOS DE HEPATITE CRÔNICA	45
11 EXAME HISTOPATOLÓGICO EM 29 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ASSINTOMÁTICOS	47
12 PROPORÇÃO DOS ESPAÇOS-PORTA COM AGREGADOS LINFÓIDES EM PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS	49
13 ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS HEPÁTICAS E SUAS RELAÇÕES COM A ATIVIDADE DA ALT EM 29 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS	50
14 ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O PADRÃO DA ALT E ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM BIOPSIAS HEPÁTICAS EM PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS	50
15 ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O VALOR MÉDIO DA ALT E AS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS	51
16 FREQUÊNCIA DE HEPATITE CRÔNICA EM BIOPSIAS DE PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS	66

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1	PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VHC (ELISA 2) EM 113 PACIENTES HEMODIALISADOS	38
2	COMPORTAMENTO DO NÍVEL SÉRICO DE ALT EM 41 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS	40
3	ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS NOS 29 ESPÉCIMES DE BIÓPSIA HEPÁTICA DE PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ASSINTOMÁTICOS	42
4	CASO 18. ALARGAMENTO PORTAL COM INFILTRADO INFLAMATÓRIO LINFOCITÁRIO DENSO, ENGLOBANDO HEPATÓCITOS NA PERIFERIA.....	43
5	CASO 21. EXPANSÃO DO TECIDO CONJUNTIVO PORTAL, INFILTRADO LINFOCITÁRIO DISCRETO E NECROSE HEPATOCÍTICA FOCAL NA LÂMINA LIMITANTE	43
6	ÍNDICE DE ATIVIDADE HISTOLÓGICA EM 15 CASOS DE HEPATITE CRÔNICA EM HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS	44
7	CASO 16. A - DIMINUTO FOCO DE HEPATOCITÓLISE E INFILTRADO MONONUCLEAR; B - ÁREA DE PROLIFERAÇÃO DO RETÍCULO COMPATÍVEL COM FOCO DE NECROSE HEPATOCELULAR	45
8	CASO 21. FIBROSE PERIportal COM SEPTOS INCIPIENTES	46
9	CASO 4. MACRÓFAGOS CONTENDO MATERIAL PAS-POSITIVO RESISTENTE À DIGESTÃO, COMPATÍVEL COM MATERIAL ESTRANHO	46
10	CASO 1. DEPÓSITO DE HEMOSIDERINA EM HEPATÓCITO DA ZONA 1 DO ÁCINO HEPÁTICO	47
11	CASO 3. HCP COM AGREGADO LINFÓIDE BEM DELIMITADO E FIBROSE PORTAL .	48
12	CASO 16. PRESENÇA DE LINFÓCITOS INTRA-SINUSOIDAIS E DISCRETA HIPERPLASIA DE CÉLULAS DE KUPFFER	48

LISTA DE SIGLAS

AgHBs	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
ALT	Alanina aminotransferase
anti-HBc	Anticorpo contra o antígeno central ou cerne (<i>core</i>) do vírus da hepatite B
anti-VHC	Anticorpo contra o vírus da hepatite C
CHC	Carcinoma hepatocelular
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
HCA	Hepatite crônica ativa
HCP	Hepatite crônica persistente
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IAH	Índice de atividade histológica
IRC	Insuficiência renal crônica
NANB	Não-A, não-B
NS	Não estrutural
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (reação em cadeia da
RIBA	<i>Recombinant immunoblot assay</i>
RNA	Ácido ribonucleico
VHB	Vírus da hepatite B
VHC	Vírus da hepatite C
VHG	Vírus da hepatite G
VHGB	Vírus da hepatite GB

RESUMO

A hepatite C é complicação comum entre pacientes em programa de hemodiálise, sendo reconhecida atualmente como a principal causa de disfunção hepática nessa população. As freqüentes hemotransfusões, a ocorrência de infecções nosocomiais e a imunossupressão freqüentemente observada na uremia compõem cenário propício para a transmissão e cronicidade da hepatite C entre hemodialisados. Dois foram os propósitos motivadores do presente estudo: verificar se a imunossupressão observada nos hemodialisados predispõe à doença mais agressiva, segundo constatação histológica, e estimar a validade da alanina aminotransferase como marcador bioquímico de presença e gravidade das lesões hepáticas causadas pelo VHC. O trabalho foi desenvolvido em duas etapas consecutivas. A primeira consistiu em estudo descritivo transversal, no qual se verificou prevalência de 64,4% de soropositividade ao anti-VHC em 113 hemodialisados, empregando-se simultaneamente dois ensaios distintos de segunda geração (UBI HCV EIA e ABBOTT HCV EIA). Na segunda etapa, adotando-se modelo coorte, um grupo selecionado de 41 hemodialisados anti-VHC positivos assintomáticos foi acompanhado por 6 meses com determinação mensal de ALT. Ao final do período, 30 pacientes foram submetidos à biopsia hepática percutânea e os achados histopatológicos foram correlacionados com níveis respectivos de ALT. Nos 6 meses, 87,70% dos 41 hemodialisados anti-VHC positivos acompanhados mantiveram níveis normais de ALT. Vinte e nove dos 30 espécimes de biopsia foram considerados adequados para a análise histológica. Dos 29 espécimes, apenas 5 apresentaram histologia hepática preservada (17,24%). Apesar de tratar-se de população assintomática, 15 casos de hepatite crônica (51,72%) foram identificados, sendo 12 de hepatite crônica persistente (41,38%) e 3 de hepatite crônica ativa (10,34%). A maioria dos casos de hepatite crônica apresentou atividade necroinflamatória mínima, sob a forma de infiltrado inflamatório mononuclear portal, sendo escassos os fenômenos inflamatórios lobulares. Das lesões hepáticas referidas como sugestivas de etiologia pelo VHC, a mais freqüente foi a de agregados linfóides envolvendo habitualmente poucos espaços-porta, observada em 48,27% dos espécimes. Estudo comparativo do padrão de ALT e do seu nível médio entre pacientes com fígado normal ou com alterações mínimas e aqueles com hepatite crônica não revelou diferença estatisticamente significativa ($p=0,15$ e $p=0,86$, respectivamente). As observações realizadas no presente estudo permitem as seguintes conclusões: a) a prevalência de hepatite C em hemodialisados na cidade de Curitiba figura entre as mais elevadas referidas na literatura; b) a hepatite crônica é achado histopatológico freqüente em hemodialisados anti-VHC positivos assintomáticos sem correspondência com o nível sérico da ALT; c) a alanina aminotransferase representa teste de pequena sensibilidade para a avaliação da gravidade da lesão hepática pelo VHC, o que torna a análise histopatológica imprescindível no acompanhamento de hemodialisados anti-VHC positivos.

ABSTRACT

Hepatitis C is a common complication among patients under hemodialysis and it is considered nowadays as the main cause of liver disfunction observed in such patients. The frequent exposure to blood transfusions, the occurrence of nosocomial infections and immunosuppression often observed in uremic represent a favorable background for infectivity and chronicity of hepatitis C among hemodialyzed patients. Two premisses have motivated the study: to check whether immunosuppression commonly observed in hemodialyzed patients actually predisposes to more aggressive disease under histopathological evaluation and to estimate the value of alanine aminotransferase (ALT) as reliable marker of existence and severity of hepatic injury. The study was performed in two consecutive stages: first a descriptive cross-sectional study with a resulting prevalence of 64.4% seropositiveness for HCV antibodies in 113 hemodialyzed patients double-checked with two different 2nd generation enzyme immunoassays (UBI HCV EIA and ABBOTT HCV EIA); second, adopting a cohort model, a selected group of 41 hemodialyzed patients was followed during 6 months with monthly ALT determinations. At the end of follow-up 30 patients had a percutaneous needle liver biopsy and the histopathological findings were correlated with serum ALT levels. 87,80% from 41 HCV antibody positive hemodialyzed patients maintained normal levels of ALT during 6 months of follow-up. 29 from 30 specimens were considered adequate for the study. From the 29 specimens examined, only 5 (17.24%) had normal hepatic architecture. Although the patients were asymptomatic, there were 15 cases of chronic hepatitis (51.72%), being 12 CPH (41.38%) and 3 CAH (10.34%). Necro-inflammatory activity was minimal in the majority of chronic hepatitis cases, presenting as portal mononuclear cell infiltration. Lobular inflammatory phenomena were scant. From all lesions referred as suggestive of virus C etiology, the most frequent were follicular lymphoid aggregates present in few portal triads and found in 48.27% of the examined specimens. The medium values of ALT in patients with preserved hepatic architecture or minimal changes and patients with chronic hepatitis showed differences without statistical significance ($p=0.15$ and $p=0.86$ respectively). These data suggest that (a) the prevalence of hepatitis C virus infection is high in hemodialyzed patients in the city of Curitiba. (b) chronic hepatitis is frequent in anti-HCV positive patients, although it may not be suspected on clinical or biochemical grounds, (c) alanine aminotransferase is of low sensitivity to predict accurately severity of liver disease due to HCV, what makes liver biopsy exclusive evaluating the degree of hepatic damage in anti-HCV positive hemodialyzed patients.

1 INTRODUÇÃO

A história da civilização humana está pontilhada de doenças que desafiaram nosso conhecimento e compreensão. A infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) é, sem dúvida, uma delas. A dificuldade na identificação do agente etiológico, as rotas de transmissão ainda não totalmente elucidadas, o eficiente mecanismo viral de escape à vigilância imunológica favorecendo a persistência da infecção, a variabilidade no curso natural da doença e a pobre resposta à terapêutica antiviral são alguns dos aspectos que particularizam essa entidade e estimulam um número cada vez maior de pesquisas nessa área.

A hepatite C é uma doença de distribuição mundial, cuja forte tendência à cronicidade, aliada ao potencial evolutivo para cirrose e carcinoma hepatocelular, é preocupante, particularmente quando se consideram populações com incidência elevada da infecção, como é o caso dos hemodialisados.

O aperfeiçoamento nos métodos diagnósticos empregados pelos bancos de sangue na seleção dos doadores, aliado ao crescente uso de eritropoetina no tratamento da anemia do paciente renal crônico vem progressivamente restringindo a participação das hemotransfusões na transmissão do VHC nas unidades de diálise. Se, por um lado, essas medidas reduzem o acesso do vírus às unidades de diálise, não são suficientes para impedir a sua disseminação entre os pacientes.

A ocorrência de infecção nosocomial pelo VHC em hemodialisados sem antecedentes transfusionais é um alerta aos profissionais da saúde para a necessidade de estrita obediência às medidas universais de precaução no manuseio de sangue e secreções durante o atendimento a esses indivíduos (MMWR, 1988), pelo uso de materiais descartáveis e desinfecção eficaz das máquinas dialisadoras, dos instrumentos e das superfícies ambientais. De fato, trabalhos recentes vêm

mostrando que a adoção desses cuidados profiláticos tem reduzido expressivamente a incidência de casos de hepatite C nas unidades de diálise.

A história natural da hepatite C nos hemodialisados ainda é pouco conhecida. Também são escassos os estudos a respeito dos aspectos histopatológicos de hemodialisados portadores do VHC, talvez por ser recente o emprego rotineiro de marcadores sorológicos específicos para o VHC nas unidades de diálise ou pelo fato de os distúrbios de coagulação observados na uremia limitarem, muitas vezes, a realização de biopsia hepática.

A observação de lesões hepáticas graves em hemodialisados sem evidência clínica e bioquímica de doença hepática indica que as conseqüências da infecção pelo VHC nessa população são maiores do que inicialmente se asseverava. O impacto da hepatite C nos hemodialisados alcança ainda maior dimensão quando se consideram mais dois aspectos: primeiramente, a limitação no emprego de terapêutica antiviral, devido à imunossupressão que acompanha a uremia; segundo, muitos dos doentes são candidatos a transplante renal, condição que pode favorecer a progressão de lesões hepáticas preexistentes. De fato, a infecção pelo VHC é hoje a principal causa de disfunção hepática crônica nos transplantados renais e figura entre as condições determinantes de mortalidade tardia daqueles que sobrevivem cinco ou mais anos após o transplante.

1.1 OBJETIVO

Desenvolver estudos que possam minorar a incidência da infecção pelo VHC nos hemodialisados e ampliar conhecimentos a respeito do comportamento evolutivo da infecção nessa população, nos pareceu estimulante.

Duas indagações foram motivadoras: primeiramente, se estariam os hemodialisados sujeitos ao aparecimento de lesões hepáticas mais graves em conseqüência do estado de imunossupressão que acompanha comumente a uremia; em segundo lugar, se as aminotransferases — dosadas rotineiramente nas unidades de

diálise — seriam suficientemente sensíveis na avaliação do envolvimento hepático pelo VHC nesses pacientes.

Assim, idealizou-se estudo prospectivo em hemodialisados assintomáticos portadores de anticorpos contra o VHC, para verificação de aspectos histopatológicos em biopsias hepáticas, correlacionando tais achados com os respectivos níveis séricos da enzima alanina aminotransferase, a fim de determinar a sensibilidade desse parâmetro bioquímico para refletir a presença e a gravidade do comprometimento hepático nessa infecção.

A pesquisa desenvolveu-se segundo duas etapas consecutivas:

- 1) estabelecimento da prevalência de anti-VHC pelo método ELISA de segunda geração em pacientes hemodialisados, na cidade de Curitiba;
- 2) verificação dos achados histopatológicos em biopsias hepáticas de pacientes hemodialisados assintomáticos anti-VHC positivos, correlacionando-os com níveis séricos da enzima alanina aminotransferase.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HEPATITE C

O crescente uso da hemoterapia como valioso recurso terapêutico na prática médica acarretou, obviamente, risco de transmissão de infecções, muitas delas associadas a considerável morbidade. Nos últimos vinte anos, avanços expressivos no conhecimento das infecções transmitidas pela via parenteral e o desenvolvimento de ensaios sorológicos permitiram maior segurança na seleção dos doadores de sangue. Ainda assim, as hepatites virais permanecem como grave complicação associada às hemotransfusões.

A descoberta do antígeno Austrália, em 1965, por BLUMBERG et al., e seu posterior emprego na seleção de doadores de sangue reduziram em apenas 25% a ocorrência de casos de hepatite pós-transfusional (ALTER et al., 1972, *apud* SHERLOCK, 1994). Na década de 70, a observação de casos de hepatite pós-transfusional que não apresentavam positividade aos marcadores sorológicos dos vírus das hepatites A ou B — excluídas as possibilidades de infecção pelos vírus Epstein-Barr e citomegálico — tornou evidente a participação de outros agentes virais como fatores etiológicos (PRINCE et al., 1974; FEINSTONE et al., 1975; KNODELL et al., 1975). Surgiu então a designação de hepatite não-A não-B (NANB), termo que refletia a incerteza quanto ao agente etiológico envolvido, cujo diagnóstico se baseava na exclusão de outros vírus hepatotrópicos conhecidos.

Nos anos que se seguiram adquiriu-se considerável conhecimento a respeito das hepatites pós-transfusionais NANB através de estudos clínicos e experimentais. Curiosamente, a história natural da doença, sua tendência à cronicidade e progressão para formas graves como hepatite crônica ativa ou cirrose e peculiaridades no aspecto histológico das lesões hepáticas foram descritas antes mesmo que se identificasse com sucesso seu agente etiológico (BERMAN et al.,

1979; KORETZ et al., 1980; DIENES et al., 1982; KORETZ et al., 1985; LEFKOWITCH e APFELBAUM, 1989; SCHEUER, 1989).

Simultaneamente aos estudos clínicos, as pesquisas experimentais realizadas em chimpanzés avançaram em ritmo acelerado. Comprovou-se a transmissibilidade da doença pela via parenteral e foram estabelecidas muitas das características físico-químicas do agente envolvido nas hepatites pós-transfusionais NANB. Tratava-se de vírus sensível ao clorofórmio, recoberto por envelope lipídico, de diâmetro inferior a 80 nm e relacionado à presença de formações tubulares membranosas no interior dos hepatócitos (ALTER et al., 1978; TABOR et al., 1978; BRADLEY et al., 1983; BRADLEY et al., 1985).

Porém as técnicas imunológicas convencionais fundamentadas na busca do antígeno viral falharam em identificá-lo, até que, em 1989, um grupo de pesquisadores chefiados por Houghton, da Chiron Corporation, em colaboração com Bradley, do Center for Disease Control (CDC), escreveram uma página singular na história da Hepatologia ao conseguir, com auxílio de técnicas de DNA complementar, clonar parte do genoma do vírus predominantemente envolvido nas hepatites pós-transfusionais NANB, hoje designado vírus da hepatite C (VHC). Tal técnica inusitada viria abrir amplo horizonte para a caracterização de infecções virais (CHOO et al., 1989). Subseqüentemente o mesmo grupo desenvolveu ensaio imunoenzimático (*enzyme-linked immunosorbent assay*) (ELISA) para detecção de anticorpos contra o polipeptídeo C100-3, produto da fusão da proteína derivada do clone original 5-1-1, das proteínas dos clones contíguos e da superóxido-dismutase (KUO et al., 1989). O emprego desse teste identificou o VHC como responsável por 85 a 90% dos casos de hepatite pós-transfusional e 50% dos casos esporádicos de hepatite NANB, o que veio a sugerir rotas não parenterais de disseminação (ALTER et al., 1989; KUO et al., 1989; CHOO et al., 1990; H.J. ALTER, 1991; TREMOLADA et al., 1991).

Sabe-se hoje que o VHC apresenta um envoltório glicoprotéico e seu RNA de hélice única encontra-se ligado a um nucleocapsídeo. Esse agente está

relacionado à família Flaviviridae por compartilhar certa similaridade com a organização genômica dos vírus pertencentes a essa família. Seu genoma é constituído de cerca de 10.000 nucleotídios que codificam uma poliproteína precursora de aproximadamente 3.000 aminoácidos. A clivagem dessa poliproteína pelas proteases do próprio vírus e das células infectadas dá origem às proteínas estruturais e não estruturais do VHC. Da região estrutural da poliproteína derivam as glicoproteínas do envelope viral e uma proteína não glicosilada que se une ao RNA genômico para constituir o nucleocapsídeo. Também a partir dessa região são formadas proteínas que podem estar presentes na superfície das células infectadas, sendo, por isso, importantes determinantes antigênicos. As proteínas não estruturais têm, presumivelmente, participação na replicação viral (CHOO et al., 1990; HOUGHTON et al., 1991; SHERLOCK e DUSHEIKO, 1991).

Cada extremidade do RNA viral apresenta uma seqüência de nucleotídios que não codificam produto algum (regiões 5' e 3'). A seqüência não codificadora 5' apresenta-se altamente conservada nos diferentes tipos de VHC isolados, motivo pelo qual tem sido empregada na detecção do RNA do VHC pelo método da reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction*) (PCR). Por outro lado, maior heterogeneidade se observa nos genes que codificam algumas proteínas não estruturais e as do envelope viral. Essas variações têm implicação no futuro desenvolvimento de vacinas e parecem estar envolvidas no escape do VHC ao sistema imune do hospedeiro (HOUGHTON et al., 1991; SHERLOCK e DUSHEIKO, 1991; DUSHEIKO e SIMMONDS, 1994).

A partir de estudos comparativos da seqüência de nucleotídios do genoma do VHC, pelo menos seis genótipos distintos já foram identificados, utilizando-se como critério a similaridade na seqüência das regiões codificadoras e não codificadoras (SIMMONDS et al., 1993, *apud* SIMMONDS, 1995). Distribuídos de modo diverso nas diferentes regiões geográficas do globo (DUSHEIKO et al., 1994; SIMMONDS, 1995), esses genótipos têm sido modernamente designados segundo classificação proposta por SIMMONDS et al. em 1994. Nesse sistema, os genótipos

são denominados com algarismos arábicos, acrescentando-se aos subtipos uma letra minúscula segundo a ordem de sua descoberta (tabela 1).

TABELA 1 - GENÓTIPOS E SUBTIPOS DO VHC, SEGUNDO NOMENCLATURA PROPOSTA POR SIMMONDS ET AL. (1994).

GENÓTIPOS	SUBTIPOS
1	a, b, c
2	a,b,c
3	a,b
4	a
5	a
6	a

Adaptada de SIMMONDS et al., 1994.

Os genótipos representam os principais grupos de seqüências genômicas divergentes do VHC, enquanto subtipos correspondem às seqüências mais intimamente relacionadas dentro de um mesmo genótipo. A existência de diferentes genótipos do VHC parece ter implicações no curso natural da doença, na gravidade das lesões histológicas e na resposta ao tratamento com interferon (YOSHIOKA et al., 1992; DUSHEIKO e SIMMONDS, 1994; DUSHEIKO et al., 1994; MITA et al., 1994; CHEMELLO et al., 1995; NOUSBAUM et al., 1995; SILINI et al., 1995; SIMMONDS, 1995).

O VHC, à semelhança do que ocorre com outros vírus RNA, apresenta alta taxa de mutações espontâneas durante o processo de replicação viral. Este fato origina populações virais com genomas mutantes altamente relacionados, representando *quasispecies* do vírus (NAITO et al., 1995). As freqüentes mutações observadas em um mesmo indivíduo, no curso da infecção crônica pelo VHC, parecem constituir processo adaptativo de escape ante a atividade defensiva do sistema imunológico. Recentes publicações sugerem que a existência de *quasispecies* do vírus teria influência negativa na eficácia do tratamento com interferon e fator

coadjuvante na progressão da doença hepática (HONDA et al., 1994; KANAWAZA et al., 1994; KOISUMI et al., 1995).

Em contraste com a hepatite B, para a qual se dispõe de métodos sorológicos que identificam seus antígenos virais, o diagnóstico da hepatite C se faz pela pesquisa de anticorpos circulantes (anti-VHC). Após a clonagem do genoma do VHC em 1989, o mesmo grupo de pesquisadores desenvolveu um teste ELISA, utilizando como parte sólida a proteína recombinante C100-3, codificada pelas regiões não estruturais NS3 e NS4 do genoma viral (KUO et al., 1989). Essa prova de primeira geração (ELISA 1) possibilitou detectar anticorpos contra o VHC em mais de 80% dos casos de hepatite pós-transfusional NANB. A ocorrência desses anticorpos atingia níveis de até 100% nos casos crônicos, sendo menos freqüente na doença aguda autolimitada (15-60%) (ALTER et al., 1989; ESTEBAN et al., 1989; CHOO et al., 1990; ESTEBAN et al., 1990; AACH et al., 1991). A persistência de anti-VHC nos casos de infecção crônica veio sugerir a falta de qualidade protetora desses anticorpos. Diversos estudos experimentais constataram que a reexposição ao VHC resulta, na maioria dos casos, em reinfeção caracterizada pelo reaparecimento de viremia, soroconversão e alterações ultra-estruturais no tecido hepático. Os animais cronicamente infectados desenvolvem quadro semelhante quando reexpostos ao VHC. Tal fenômeno foi observado mesmo na reexposição a cepas idênticas às do surto inicial. Uma das hipóteses aventadas para o não desenvolvimento de resposta imunológica adequada foi a presença de lipoproteínas (VLDL) recobrando partículas virais, o que impediria sua ligação aos anticorpos sintetizados (FARCI et al., 1992; PRINCE et al., 1992; PRINCE, 1994).

A realização dos testes ELISA 1 para detecção de anti-VHC na população de doadores de sangue reduziu expressivamente o risco de infecção pós-transfusional pelo VHC, atingindo níveis inferiores a 0,6% por paciente e 0,03% por unidade transfundida (DONAHUE et al., 1992). Mesmo assim, a adoção dessa prática não eliminou totalmente o risco de transmissão de VHC nas hemotransfusões, pois durante a longa janela imunológica os portadores ficam impedidos de identificação

pelo método. Seriam, pois, limitações do método: a) o aparecimento tardio de anticorpos, detectados em média 20 semanas após a transfusão, inviabilizando, portanto, o diagnóstico das formas agudas da doença; b) a ocorrência considerável de resultados falso-positivos, particularmente em populações de baixo risco e em indivíduos com hipergamaglobulinemia, hepatite auto-imune tipo I, anticorpos anti-superóxido-dismutase, fator reumatóide positivo e paraproteinemia; c) a impossibilidade de diferenciar um quadro de infecção atual, de um quadro passado resolvido e d) baixa sensibilidade (ALTER et al., 1989; McFARLANE et al., 1990; HSU et al., 1991; WEILAND et al., 1992; MITCHEL et al., 1993; SHERLOCK, 1994).

A fim de excluir resultados falso-positivos, desenvolveu-se, como método suplementar, um teste de imunomarcacão chamado *recombinant immunoblot assay* (RIBA), que veio permitir a detecção qualitativa dos anticorpos pesquisados no teste ELISA 1. Os antígenos utilizados no RIBA de primeira geração (RIBA 1) são o C100-3 e o C5-1-1 associados à superóxido-dismutase como controle. O teste mostrou-se mais específico que o ELISA 1 e bom indicador da presença de viremia e correspondente lesão hepática subjacente (EBELING et al., 1990; ALBERTI et al., 1991).

As limitações observadas nos testes de primeira geração estimularam a pesquisa de outros antígenos virais que suscitassem resposta imunológica mais precoce e universal. O alcance de tal objetivo foi facilitado pelo seqüenciamento de todo o genoma viral. Surgiram então testes de segunda geração ELISA 2 e RIBA 2, que incorporam os seguintes antígenos: a proteína estrutural C22-3, presente no nucleocapsídeo, e a C33-c, derivada da região não estrutural NS3 do genoma do VHC. Dessa modificação resultou a detecção mais precoce de anticorpos (em média 6 semanas após exposição ao VHC) e a redução de resultados falso-positivos (BROWN et al., 1992; KATAYAMA et al., 1992; McHUTCHISON et al., 1992; WEILAND et al., 1992; HINO et al., 1994).

Com a incorporação de novos antígenos recombinantes ou sintéticos, derivados de outras regiões do genoma viral, os testes de segunda geração alcançaram significativa melhora em sensibilidade e especificidade. O método RIBA 2 mostrou-se capaz de discriminar indivíduos infectantes de não infectantes, pois sua reatividade é altamente predizível de viremia pelo VHC, independentemente dos níveis séricos de aminotransferases (VAN DER POEL et al., 1991; NAKATSUJI et al., 1992; ROMEO et al., 1993). De fato, diferentes estudos realizados em pacientes anti-VHC positivos por método ELISA 2 e confirmados pelo RIBA 2 mostraram fiel correlação entre a positividade do RIBA 2, a presença de viremia e as alterações histológicas reveladas à biopsia hepática (ESTEBAN et al., 1991; CHEMELLO et al., 1993; SHEV et al., 1993).

Recentemente desenvolveu-se teste ELISA de terceira geração (ELISA 3), que detecta anticorpos contra antígenos do nucleocapsídeo e das regiões não estruturais NS3, NS4 e NS5. Dois testes de imunomarcacão de terceira geração com finalidade confirmatória já são também disponíveis: o RIBA 3, desenvolvido pelo laboratório Ortho, e o INNO-LIA, pelo laboratório Immunogenetics. Enquanto o RIBA 3 emprega peptídios sintéticos do nucleocapsídeo e da região NS4 e antígenos recombinantes das regiões NS3 e NS5, o INNO-LIA utiliza apenas peptídios sintéticos derivados das regiões do nucleocapsídeo E2/NS1, NS3, NS4 e NS5. Esses testes, devido à forte correlação com a presença de viremia, têm demonstrado particular utilidade no esclarecimento de casos que apresentam, persistentemente, padrão indeterminado ao RIBA 2 (reatividade contra apenas um antígeno do VHC) (GARCÍA-SAMANIEGO et al., 1994; UYTENDAELE et al., 1994; VAN DER POEL, 1994; ZANELLA et al., 1995).

Os testes ELISA e RIBA de primeira, segunda e terceira geração acima referidos detectam anticorpos da classe IgG contra antígenos do VHC. Essas imunoglobulinas, caracteristicamente, surgem mais tardiamente na fase aguda da infecção. A fim de identificar anticorpos IgM no curso da infecção pelo VHC, desenvolveu-se teste ELISA que utiliza como antígeno a proteína recombinante

C100-3. O emprego desse método demonstrou que os anticorpos IgM aparecem precocemente no curso da infecção e tendem a persistir além de seis meses nos casos que evoluem para a forma crônica. Além disso, sua presença nos portadores crônicos de anti-VHC associou-se, com frequência, a evidência de lesão histológica, sendo por isso marcador positivo de atividade da doença hepática induzida pelo VHC (QUIROGA et al., 1991; BRILLANTI et al., 1992).

Recentemente, QUIROGA et al. (1995), ao empregarem ensaio imunoenzimático para detecção de imunoglobulinas da classe IgM contra antígenos da região central (*core*) do vírus em portadores crônicos do VHC, verificaram correlação positiva entre esse anticorpo e a presença de viremia. Desse estudo advêm ainda outras informações valiosas tais como: a ocorrência significativamente maior do desaparecimento desse anticorpo nos indivíduos que apresentaram resposta mantida ao tratamento com interferon, quando comparados aos não respondedores e àqueles respondedores que desenvolveram na evolução reativação bioquímica da doença. Assim, os autores sugerem que a pesquisa do anti-VHC IgM contra a região central do vírus pode ser útil na monitorização da terapia antiviral, além de prever que indivíduos apresentam risco aumentado de recidiva da doença. A utilidade desse teste na predição da resposta à terapia com interferon na hepatite crônica C havia sido assinalada por TABONE et al. já em 1994, quando observaram que indivíduos com títulos elevados de anticorpos da classe IgM para a região central do VHC comportavam-se como não respondedores, enquanto 71% daqueles com teste negativo apresentavam resposta mantida à terapia antiviral.

Devido ao intervalo decorrido entre a exposição ao VHC e a resposta imunológica aos seus diferentes antígenos nos indivíduos infectados, o desejável seria a detecção direta dos antígenos virais circulantes. Entretanto os baixos níveis de viremia observados na infecção inviabilizam essa prática pelos métodos imunológicos convencionais. Por isso, o “padrão ouro” no diagnóstico da hepatite C é a pesquisa do RNA do VHC pelo método da PCR (FARCI et al., 1991; SUGITANI et al., 1992; RUBIN et al., 1994; SHERLOCK, 1994). Essa técnica,

extremamente sensível, é capaz de detectar diminutas quantidades de ácidos nucléicos virais no tecido hepático e no soro graças ao processo de amplificar milhares de vezes o DNA complementar. Por apresentar-se altamente conservada nos diferentes genótipos identificados, a sequência de nucleotídios na região não codificadora 5' do genoma do VHC é com frequência empregada como *primer* na técnica da PCR.

A aplicação do método da PCR na hepatite C inclui: *diagnóstico precoce da infecção*, pois o RNA viral já se encontra presente no soro uma a duas semanas após a contaminação (FARCI et al., 1991; PUOTI et al., 1992); *monitorização da resposta terapêutica ao interferon* (HAGIWARA et al., 1993; SHINDO et al., 1995a); *constatação da transmissão vertical do VHC por mães infectantes aos seus recém-nados* (THALER et al., 1991; NOVATI et al., 1992; OHTO et al., 1994); *determinação da presença de infecção atual ou passada nos portadores de anti-VHC, particularmente nos indivíduos assintomáticos sem sinais de disfunção hepática* (McGUINNESS et al., 1993), e *esclarecimento nos casos de amostras de soro com padrão indeterminado ao RIBA de segunda e terceira geração* (GARCÍA-SAMANIEGO et al., 1994; ZANELLA et al., 1995).

Além disso, a técnica é valiosa na detecção da infecção pelo VHC em indivíduos em quem alterações na resposta imunológica possam comprometer a formação de anticorpos, como, por exemplo, transplantados, hemodialisados e portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (PEREIRA et al., 1992; BUKH et al., 1993, LOK et al., 1993; OLIVA et al., 1993; SAKAMOTO et al., 1993; CORNU et al., 1994; KUHNS et al., 1994).

Outra aplicação do método consiste na avaliação de pacientes portadores de hepatite auto-imune com sorologia positiva para o VHC, em quem o diagnóstico de certeza da presença de infecção pelo VHC irá influenciar na terapêutica (MITCHEL et al., 1993; SHERLOCK, 1994).

Por tratar-se de técnica extremamente sensível, capaz de identificar uma única molécula de ácido nucléico, pode fornecer resultados errôneos,

particularmente falso-positivos, por contaminação da amostra. Estudo conduzido por ZAAIJER et al. (1993) para verificar o controle de qualidade na pesquisa do RNA do VHC por PCR em 31 diferentes laboratórios que realizavam a técnica constatou que cerca de 30% deles apresentavam erros nos resultados fornecidos quando avaliavam amostras não diluídas. Esse índice se elevou para 50% quando se tratava de amostras diluídas. Os resultados falso-positivos foram o principal problema observado (ZAAIJER et al., 1993), o que leva a recomendar prudência na interpretação de resultados positivos. É essencial que se realizem reações-controle negativas e que os testes sejam feitos, pelo menos, em triplicata e em condições de estrutura laboratorial especialmente adequadas (SHERLOCK, 1994).

Recentemente, NOURI-ARIA et al. (1995), utilizando técnica de imunoperoxidase, conseguiram demonstrar antígenos do VHC tanto em células epiteliais hepáticas (hepatócitos e ductos biliares) como em não epiteliais (células mononucleares) em amostras de tecido hepático com teste positivo para RNA do VHC. Ainda mais sensíveis do que os métodos imuno-histoquímicos parecem ser os métodos de hibridização *in situ*. A sensibilidade pode ainda ser aumentada através de técnicas de PCR *in situ*. Entretanto os resultados publicados têm mostrado contradições, especialmente no que diz respeito à localização das seqüências virais e sua relação com a injúria celular (GUIDO e THUNG, 1996).

Nos anos que precederam a identificação do VHC e o desenvolvimento de ensaios sorológicos específicos, dois testes foram utilizados na seleção de doadores de sangue como marcadores indiretos de risco de desenvolvimento no receptor de hepatite pós-transfusional NANB: a determinação da enzima alanina aminotransferase (ALT) e do anticorpo contra o antígeno central (cerne, i.e., *core*) do vírus da hepatite B (anti-HBc). A exclusão de doadores apresentando ou níveis elevados de ALT e positividade ao anti-HBc ou somente níveis elevados de ALT ou só positividade ao anti-HBc mostrou-se parcialmente efetiva, reduzindo em 40 a 50% os casos de hepatite pós-transfusional NANB (STEVENS et al., 1990; DONAHUE et al., 1992; H.J. ALTER, 1994; BLAJCHMAN et al., 1995).

Diferentes estudos realizados após o advento dos testes sorológicos específicos para o VHC apontam para sua notória superioridade em prevenir casos de hepatite C pós-transfusional quando comparados aos marcadores indiretos (STEVENS et al., 1990; DONAHUE et al., 1992; CHUNG et al., 1993; H.J. ALTER, 1994). De fato, estima-se que o índice de risco atual de hepatite pós-transfusional esteja em torno de 3:10.000 unidades transfundidas (DONAHUE et al., 1992), quando se dispõe das técnicas laboratoriais preconizadas.

Considerando que a introdução de testes sorológicos de 2^a e 3^a geração na avaliação dos doadores de sangue irá reduzir ainda mais o risco de hepatite C pós-transfusional, o benefício da manutenção da ALT e do anti-HBc no processo de seleção dos doadores de sangue tem sido questionado (BLAJCHMAN et al., 1995). Recentes publicações justificam a permanência do anti-HBc não como marcador indireto do VHC, mas como indicador da infecção pelo VHB (CHUNG et al., 1993; TAKANO et al., 1993; H.J. ALTER, 1994; MOSLEY et al., 1995). Devido ao elevado índice de resultados falso-positivos fornecidos por esse teste, ALTER, H.J. (1994) sugere que se adote como estratégia a exclusão apenas dos indivíduos com altos títulos do anticorpo para evitar a perda desnecessária de doadores de sangue, a exemplo da bem sucedida experiência japonesa (JAPANESE RED CROSS NON-A NON-B HEPATITIS RESEARCH GROUP, 1991). Embora elevações discretas dos níveis da ALT em doadores de sangue estejam frequentemente relacionadas ao consumo de álcool e à obesidade (KATKOV et al., 1991), o que acarreta a exclusão de indivíduos não infectantes, a manutenção desse teste ainda encontra respaldo na possibilidade de identificar casos de hepatite C sem soroconversão ou portadores de outros vírus hepatotrópicos não conhecidos. Essa última possibilidade baseia-se na observação de que, excluindo-se outras causas de injúria hepática (H.J. ALTER, 1994), 10 a 20% dos casos de hepatite pós-transfusional NANB são negativos à pesquisa de anti-VHC pelos métodos de segunda geração e não apresentam RNA do VHC no soro.

Com a disponibilidade do diagnóstico sorológico da infecção pelo VHC, inúmeros estudos epidemiológicos conduzidos em doadores de sangue permitiram estabelecer sua prevalência em diferentes regiões geográficas. Sabe-se hoje que a hepatite C é de distribuição mundial e a prevalência de soropositividade ao anti-VHC na população adulta oscila em torno de 0,3 a 1,5%, sendo menor nos países do Oeste Europeu e na América do Norte, elevando-se nos países do Mediterrâneo e áreas tropicais (ESTEBAN et al., 1989; JANOT et al., 1989; KÜHNEL et al., 1989; SIRCHIA et al., 1989; ALTER, 1990; CHOO et al., 1990; STEVENS et al., 1990; CONTRERAS et al., 1991; LEE et al., 1991; SHERLOCK, 1994). No Brasil, os índices encontrados em doadores de sangue de diferentes regiões do país, utilizando-se testes de segunda geração, variam de 0,9 a 3% (AIRES et al., 1994; PATIÑO-SARCINELLI et al., 1994; SOUTO et al., 1994; BRANDÃO et al., 1995; CASTILHO et al., 1995).

Devido à inequívoca transmissão parenteral, determinados grupos, como hemofílicos e drogadictos (60 a 90%) e hemodialisados (5 a 54%), apresentam frequência elevada de positividade ao anti-VHC (ESTEBAN et al., 1989; CHOO et al., 1990; BRETTTLER et al., 1990; RUMI et al., 1990; H.J. ALTER, 1991; LEE et al., 1991; DRUWÉ et al., 1994). Felizmente, os métodos de inativação viral adotados atualmente pelos bancos de sangue reduziram substancialmente o risco de transmissão do VHC através de concentrados de fatores de coagulação, oferecendo maior segurança aos hemofílicos e portadores de outras desordens da coagulação (SHERLOCK, 1994).

Profissionais da área de saúde passíveis de exposição acidental a sangue contaminado representam também grupo de risco para contrair a infecção pelo VHC, embora ferimentos com agulhas aos quais estão sujeitos pareçam oferecer baixo risco de transmissão, provavelmente por tratar-se de episódio isolado no qual o pequeno volume de sangue acidentalmente inoculado contém reduzida carga viral. Diferentes estudos a respeito da prevalência do anti-VHC em profissionais dessa área, particularmente naqueles em contato com pacientes sabidamente infectados,

como os hemodialisados, mostram índices semelhantes ou pouco acima dos observados na população em geral (LIN et al., 1991; CHAUVEAU et al., 1993; FUJIYAMA et al., 1995; GERBERDING, 1995). Apesar de infreqüente, a transmissão percutânea acidental da hepatite C pode ocorrer, conforme relato de KIYOSAWA et al. (1991).

Outra possível via de transmissão parenteral do VHC, apesar de incomum, é o transplante de órgãos retirados de doadores anti-VHC positivos, particularmente daqueles com viremia (PEREIRA et al., 1992; ROTH et al., 1993).

A observação de que menos da metade dos portadores do VHC apresentam antecedentes de exposição parenteral a sangue ou derivados, transplante de órgão ou uso de agulhas contaminadas indica a ocorrência de outras rotas de disseminação da infecção. A transmissão sexual e intrafamiliar parecem ocorrer, embora em freqüência significativamente inferior à observada na hepatite B (EVERHART et al., 1990; MELBYE et al., 1990; EYSTER et al., 1991; KOLHO et al., 1991; GORDON et al., 1992; KAO et al., 1992; BUSCARINI et al., 1993; HONDA et al., 1993; AKAHANE et al., 1994; SHERLOCK, 1994). Os resultados conflitantes obtidos em diferentes estudos a respeito da transmissão sexual e intrafamiliar do VHC podem refletir, segundo M.J. ALTER (1994), diferentes concentrações de partículas virais no soro e fluidos orgânicos nos casos-índices avaliados, o que acarreta graus variáveis de infecciosidade. A dificuldade para estabelecer o grau de infecciosidade nos portadores do VHC advém da inexistência de testes para a detecção de antígenos virais no soro, diferentemente da infecção pelo VHB, em que a presença do antígeno "e" se correlaciona satisfatoriamente com risco aumentado de transmissibilidade da doença. A pesquisa do RNA do VHC pelo método da PCR — técnica refinada que permite avaliar a presença de viremia e quantificá-la — é ainda restrita a poucos centros de pesquisa e está sujeita a resultados errôneos, quer pelo manejo e estocagem inadequada das amostras, quer pela sua contaminação.

A transmissão vertical do VHC é evento raro, o que é surpreendente pela quantidade volumosa de sangue a que se expõe a criança ao nascimento. Há evidências de que a transmissão vertical está relacionada a níveis elevados de viremia materna (OHTO et al., 1994). Isso justifica, em parte, a maior ocorrência de transmissão vertical em mães portadoras simultaneamente do VHC e HIV, nas quais, devido à imunossupressão, se observam níveis elevados de viremia (THALER et al., 1991; NOVATI et al., 1992; SHERLOCK, 1994; ZANETTI et al., 1995).

Se, por um lado, a rota parenteral (percutânea) e, mais raramente, a sexual e a vertical podem disseminar o VHC, não está ainda esclarecido o mecanismo pelo qual milhões de indivíduos sem fator evidente de risco adquirem a infecção na comunidade. É provável que, com o desenvolvimento de técnicas diagnósticas para detecção da viremia acessíveis à comunidade médica em geral, o comportamento epidemiológico da hepatite C seja melhor compreendido, particularmente no que tange ao mecanismo pelo qual se infectam casos esporádicos.

Muitas das informações a respeito da história natural da infecção pelo VHC provêm de estudos prospectivos de casos de hepatite pós-transfusional NANB realizados antes do advento dos testes sorológicos específicos (BERMAN et al., 1979; KORETZ et al., 1980; KORETZ et al., 1985). Na fase aguda da doença, 70 a 80% dos casos são anictéricos, oligossintomáticos ou assintomáticos, sendo raras as formas graves. Quando presentes, seus sintomas são indistinguíveis dos das demais hepatites agudas virais. O seguimento bioquímico desses indivíduos revela, em 50 a 70% deles, a presença de níveis séricos elevados de ALT, mesmo depois de seis meses, de forma contínua ou intermitente (DI BISCEGLIE et al., 1991). Quando se adota como parâmetro a persistência do RNA viral no soro, os índices de cronicidade são ainda maiores (FARCI et al., 1991; LOK et al., 1992). Essa forte tendência à cronicidade tem sido atribuída, em parte, à notável habilidade do VHC em persistir no hospedeiro, provavelmente devido a freqüentes mutações que constituem mecanismo eficiente de escape à vigilância imunológica (DUSHEIKO e SIMMONDS, 1994).

A hepatite crônica C apresenta-se lentamente progressiva e de expressão clínica pobre, evoluindo para cirrose em 20 a 30% dos casos, em média 20 anos após a contaminação (ALTER, 1990; KIYOSAWA et al., 1990; DI BISCEGLIE et al., 1991; WEILAND et al., 1992; M. TAKAHASHI et al., 1993; TONG et al., 1995). Também a forma esporádica da hepatite C, adquirida na comunidade, apresenta elevado índice de cronicidade, com persistência de viremia inclusive em indivíduos sem evidência clínica ou bioquímica de doença hepática (M.J. ALTER et al., 1992).

O desenvolvimento de lesões hepáticas graves, a despeito da natureza silenciosa dessa infecção, se ilustra nas observações realizadas por ESTEBAN et al. (1991). Avaliando portadores assintomáticos de anti-VHC (ELISA 2 positivo confirmado pelo RIBA 2), os autores encontraram ampla gama de lesões hepáticas com nítido predomínio das formas graves (hepatite crônica ativa ou cirrose em 52% dos casos). ALBERTI et al. (1992) e SHINDO et al. (1995b) também relatam a presença de lesões hepáticas em portadores assintomáticos do VHC, sugerindo que a presença do RNA viral é um marcador sensível de doença hepática, independentemente dos níveis séricos de ALT. A falta de correlação entre a presença de viremia e os níveis séricos de ALT tem sido referida em diversas publicações (FARCI et al., 1991; LOK et al., 1992; McGUINNESS et al., 1993; ROMEO et al., 1993). O achado de lesões hepáticas na presença de níveis persistentemente normais de ALT reforça a necessidade da biopsia hepática nos indivíduos infectados cronicamente pelo VHC, particularmente naqueles com viremia (HEALEY et al., 1995; PRIETO et al., 1995).

A observação de indivíduos que mantêm níveis persistentemente normais da ALT não obstante a presença de viremia e que não apresentam alterações estruturais à biopsia (BRILLANTI et al., 1993) faz supor que a replicação viral não se associa invariavelmente à injúria hepática significativa. Os autores especulam algumas hipóteses para justificar a ausência de lesões hepáticas em tais indivíduos, como: infecção por cepas não virulentas do VHC, imunotolerância ao vírus e replicação em sítios extra-hepáticos. Assim como BRILLANTI et al., também

PRIETO et al. (1995) sugerem a existência de portadores “sadios” do VHC, pelo menos em algum período da evolução natural da doença, baseados no encontro de alterações mínimas em biopsia hepática de doadores de sangue com RNA do VHC no soro e sem evidência clínica e bioquímica de doença hepática.

A injúria hepática, segundo ROMEO et al. (1993), se correlaciona com os títulos de RNA do VHC, baseados na observação de que pacientes com ALT elevada apresentavam altos títulos de RNA, enquanto baixos níveis de viremia foram encontrados apenas naqueles com níveis normais de ALT. Corroborando essa hipótese, NAITO et al. (1994), ao quantificar níveis de viremia correlacionando-os com achados histológicos em portadores assintomáticos do VHC, observaram correlação positiva entre títulos de RNA e grau de inflamação portal. Associação entre nível de viremia e intensidade da injúria hepática também foi referida por GORDON et al. (1994) e YUKI et al. (1994).

Além da carga viral, especula-se que fatores como os diferentes genótipos virais, infecção simultânea com outros vírus hepatotrópicos, resposta imunológica e idade do hospedeiro e consumo crônico de álcool possam influir no curso natural da infecção pelo VHC. A interação desses diferentes fatores poderia explicar o comportamento agressivo e a rápida progressão para a cirrose observados em alguns indivíduos, divergindo do habitual curso indolente da hepatite crônica C (MARTIN et al., 1989; SHERLOCK e DUSHEIKO, 1991; WEILAND et al., 1992; M. TAKAHASHI et al., 1993; BRÉCHOT, 1994; DUSHEIKO e SIMMONDS, 1994; DUSHEIKO et al., 1994; SHERLOCK, 1994; SILINI et al., 1995).

À semelhança do que ocorre com o vírus da hepatite B, crescente número de publicações têm associado a infecção crônica pelo VHC ao risco aumentado de desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC) (BRUIX et al., 1989; COLOMBO et al., 1989; CHOO et al., 1990; KIYOSAWA et al., 1990; RUIZ et al., 1992; SIMONETTI et al., 1992; TONG et al., 1995). O mecanismo pelo qual o VHC favorece o aparecimento desse tumor não está completamente elucidado. Na grande maioria dos casos, o CHC associado ao VHC se instala na presença de

cirrose. A partir dessa observação, levantou-se a hipótese de que o processo de intensa regeneração hepática que acompanha a cirrose seja a via pela qual o vírus estaria implicado na patogênese do tumor (KIYOSAWA et al., 1990; RUIZ et al., 1992; M. TAKAHASHI et al., 1993; DI BISCEGLIE et al., 1994). Por outro lado a ocorrência de alguns casos de CHC em portadores crônicos do VHC na ausência de cirrose suscita dúvidas se esse vírus teria algum efeito oncogênico (KIYOSAWA et al., 1990; SHERLOCK, 1994; DE MITRI et al., 1995).

O quadro histológico da hepatite crônica C, embora não seja patognomônico, apresenta aspectos peculiares que auxiliam a distingui-lo do quadro da hepatite auto-imune e da causada pelo VHB (DIENES et al., 1982; LEFKOWITCH e APFELBAUM, 1989; SCHEUER, 1989; BACH et al., 1992; SCHEUER et al., 1992; LEFKOWITCH et al., 1993). A reação inflamatória mononuclear portal é, com freqüência, um achado proeminente, assumindo caracteristicamente a forma de agregados e/ou folículos linfóides, por vezes com centros germinativos. Embora se atribua ao VHC ação predominantemente citopática, tais infiltrados podem ser indícios da participação de mecanismo imunológico na gênese da lesão hepática (HINO et al., 1992; SCHEUER et al., 1992; SHERLOCK, 1994). Apontam também para essa possibilidade a constatação de que nem todos os indivíduos virêmicos desenvolvem lesão hepática (BRILLANTI et al., 1993) e a observação de que se reduzem os níveis de ALT durante o uso de altas doses de corticosteróides, apesar da elevação dos títulos de RNA do VHC no soro (FONG et al., 1994). Nos tratos portais é possível identificar, porém menos freqüentemente, evidências de agressão aos pequenos ductos biliares. Essas estruturas, geralmente situadas na periferia ou no meio dos agregados linfóides, podem apresentar infiltração por linfócitos, degeneração focal e necrose do epitélio ductal. Quando presente, a necrose em saca-bocados tende a ser discreta e focal, envolvendo habitualmente poucos espaços-porta.

O envolvimento lobular da doença traduz-se por necrose hepatocelular focal, corpos acidófilos circundados ou não por células inflamatórias, ativação das

células inflamatórias sinusoidais (infiltrado linfocitário sinusoidal e células de Kupffer proeminentes) e esteatose (DIENES et al., 1982; SCHEUER et al., 1992). Além disso, é também referida a ocorrência de hepatócitos gigantes multinucleados e displasia hepatocelular (LEFKOWITCH e APFELBAUM, 1989). LEFKOWITCH et al. (1993), em estudo comparativo com a hepatite B crônica, apontam como parâmetros úteis no diagnóstico histológico da hepatite crônica pelo vírus C quatro achados relevantes: agregado e/ou folículos linfóides, lesão ductal, esteatose macrovesicular e corpúsculos acidófilos tipo Mallory. Esse último achado, embora presente em apenas 17,6% dos pré-tratados, pode ser considerado como relevante por ter sido constatado apenas nas biopsias dos casos de hepatite C crônica. Assim, a hepatite pelo VHC compõe um quadro histológico em que se somam alterações portais e lobulares.

2.2 A HEPATITE C EM PACIENTES HEMODIALISADOS CRÔNICOS

As hepatites virais de transmissão parenteral e percutânea são reconhecidas como complicação importante nos centros de hemodiálise. Estudos conduzidos na década de setenta, após a introdução do teste AgHBs, detectaram elevada prevalência de infecção pelo VHB em hemodialisados, proveniente não apenas das freqüentes hemotransfusões a que se submetiam os pacientes para correção da severa anemia que acompanha a uremia, como também da ocorrência de infecção nosocomial nesses serviços (FAVERO, 1986). Nos anos subseqüentes, a realização rotineira do AgHBs nos bancos de sangue, aliada à adoção de medidas de isolamento dos pacientes infectados, à determinação periódica do AgHBs nos hemodialisados para identificação precoce de novos casos e à vacinação dos indivíduos não imunes, reduziu significativamente a incidência da hepatite B nos centros de diálise (SZMUNESS et al., 1974; FAVERO, 1986; KHAN et al., 1993).

Apesar disso, a prevalência da hepatite B nos hemodialisados é ainda superior à observada na população em geral. A determinação do anti-HBc na avaliação dos doadores de sangue ampliou a possibilidade de detecção de portadores do VHB, de modo que a incidência atual de hepatite B pós-transfusional é estimada

em 0,002% por receptor de transfusão (CDC, 1991). Portanto a infecção nosocomial é hoje a principal rota envolvida na disseminação da infecção nas unidades de hemodiálise (CENDOROGLO NETO et al., 1995). Devido à imunossupressão, a infecção nos hemodialisados evolui em mais de 60% dos casos para a cronicidade, tornando-os reservatórios permanentes do VHB nesses centros (GOLDBLUM et al., 1980).

Com a disponibilidade de testes para o diagnóstico sorológico das hepatites A e B, surgiram a partir dos anos setenta relatos de casos de hepatite NANB em unidades de hemodiálise (GALBRAITH et al., 1979; GITNICK et al., 1983; MARCHESI et al., 1988; C. TAKAHASHI et al., 1988). Nesses estudos iniciais, algumas das características dessa infecção foram evidenciadas. À semelhança dos casos descritos de hepatite NANB pós-transfusional, os pacientes apresentavam-se oligossintomáticos ou assintomáticos, e o diagnóstico era firmado pela dosagem periódica de aminotransferases realizada rotineiramente nessa população. O acometimento da infecção em indivíduos sem antecedentes transfusionais levantou a possibilidade de contaminação nosocomial, a exemplo do que ocorre na hepatite B. O desenvolvimento de doença crônica foi verificado pela persistência de alterações bioquímicas além de seis meses em vários pacientes. De fato, MARCHESI et al. (1988), ao submeterem a biopsia hepática 8 hemodialisados com hepatite NANB que mantinham níveis persistentemente elevados de aminotransferases por pelo menos dezoito meses, encontraram 6 casos de hepatite crônica persistente e 2 de crônica ativa leve. Com o número crescente de diagnósticos de casos de hepatite NANB nessa população, muitos dos quais evoluindo para a forma crônica, essa doença foi gradualmente ganhando relevância no cenário da Nefrologia, tornando-se hoje a principal causa de disfunção hepática nos hemodialisados (DRUWÉ et al., 1994).

O desenvolvimento de ensaios sorológicos para detecção de anticorpos contra antígenos do VHC, principal agente implicado nas hepatites NANB, permitiu estabelecer a prevalência dessa infecção em diferentes populações de hemodialisados (tabela 2).

TABELA 2 - PREVALÊNCIA DE SOROPOSITIVIDADE AO ANTI-VHC EM HEMODIALISADOS CRÔNICOS.

País	PREVALÊNCIA (%)	AUTOR
Alemanha	4,2 [*]	HOLZBERGER et al., 1991
Arábia Saudita	40,4 [*]	ALFURAYH et al., 1992
	45,5 [*]	AL NASSER et al., 1992
	30,7 [*]	MITWALLI et al., 1992
Bélgica	13,5 ^{**}	JADOUL et al., 1993
Brasil	68,0	YOSHIDA et al., 1993
	62,0 ^{**}	ALMEIDA et al., 1994
	31,5 ^{**}	SACONATO et al., 1994
	29,8 [*]	KAROHL et al., 1995
Bulgária	60,0 ^{**}	ROUSSINOV et al., 1993
Dinamarca	8,2 ^{**}	BUKH et al., 1993
	4,7 ^{**}	KNUDSEN et al., 1993
Escócia	3,9 ^{**}	McINTYRE et al., 1994
Espanha	20,0 [*]	ESTEBAN et al., 1989
	44,0 ^{**}	SELGAS et al., 1992
	30,0 [*]	OLIVA et al., 1993
Formosa	46,7 [*]	LIN et al., 1991
	47,2 ^{**}	SHEU et al., 1992
França	54,0 ^{**}	CHAUVEAU et al., 1993
	39,6 ^{**}	SIMON et al., 1994
	42,0 ^{**}	COUROUCÉ et al., 1995
	23,6 ^{**}	DUSSOL et al., 1995
Grécia	17,6 [*]	ELISAF et al., 1991
Holanda	15,7 [*]	ZELDIS et al., 1990
Hong-Kong	21,6 ^{**}	CHAN et al., 1993
Inglaterra	10,2 ^{**}	CONWAY et al., 1992
Itália	36,7 ^{**}	BESSO et al., 1992
	52,9 ^{**}	COLOMBO et al., 1992
	55,0 ^{**}	MONDELLI et al., 1992
	38,0 ^{**}	MOSCONI et al., 1992
	25,2 [*]	VANDELLI et al., 1992
	25,0 ^{**}	KUHNS et al., 1994
Japão	30,4 [*]	HAYASHI et al., 1991
	22,0 ^{**}	SAKAMOTO et al., 1993
	26,0 ^{**}	MASUKO et al., 1994
	30,3 ^{**}	FUJIYAMA et al., 1995
Macedônia	84,25 ^{**}	MASIN, et al., 1993
México	52,0 ^{**}	ALBERÚ et al., 1994
Suécia	15,0 ^{**}	MEDIN et al., 1993
USA	12,0 [*]	JEFFERS et al., 1990
Venezuela	39,0 ^{**}	MULLER et al., 1992

*Teste sorológico de primeira geração.

**Teste sorológico de segunda geração.

***Teste sorológico de terceira geração.

Apesar da variação nos índices encontrados nesses estudos, fica claro que a prevalência de hepatite C nos hemodialisados é sensivelmente superior à observada na população em geral. A diferença entre os resultados obtidos decorre, entre outras razões, do emprego de testes sorológicos de primeira, segunda ou terceira geração. Diversos autores constataram a superioridade diagnóstica do teste ELISA 2 ao submeterem grupos de hemodialisados à pesquisa de anti-VHC por método de primeira e segunda geração, conforme está demonstrado na tabela 3.

TABELA 3 - PREVALÊNCIA DE ANTI-VHC EM HEMODIALISADOS POR MÉTODO ELISA 1 E 2.

AUTOR	Nº DE PACIENTES ESTUDADOS	ELISA 1 (%)	ELISA 2 (%)
COLOMBO et al., 1992	51	17,6	52,9
MAZZOTTA et al., 1992	74	12	20,2
MONDELLI et al., 1992	277	31,0	55,0
MOSCONI et al., 1992	185	20,0	38,0
SHEU et al., 1992	125	32,0	47,2
CHAN et al., 1993	51	11,8	21,6
SAKAMOTO et al., 1993	184	10,7	22,0

Devido à imunossupressão que acompanha a uremia (GOLDBLUM et al., 1980; KHAN et al., 1993), os hemodialisados apresentam menor reatividade aos antígenos do VHC, o que acarreta o aparecimento tardio de anticorpos e dificulta o diagnóstico sorológico da infecção. A baixa reatividade ao C100-3 quando comparada aos antígenos C22-3 e C33-c explica por que os testes de segunda geração são mais sensíveis na detecção da hepatite C nessa população (LOK et al., 1993; OLIVA et al., 1993). O número real de indivíduos infectados nas unidades de diálise é, na verdade, subestimado quando se utilizam apenas critérios sorológicos. Diferentes autores demonstraram a presença de RNA viral no soro de hemodialisados anti-VHC negativos (ELISA 2), o que vem confirmar a incapacidade desses pacientes em montar uma resposta humoral adequada (BUKH et al., 1993; SAKAMOTO et al., 1993; KUHNS et al., 1994; MASUKO et al., 1994).

O problema da hepatite C nas unidades de diálise ganha maior dimensão quando se verifica que, além da existência de portadores do vírus sem soroconversão, a maioria dos que apresentam positividade ao anti-VHC por método de segunda geração são virêmicos e, portanto, infectantes (SHEU et al., 1992; BUKH et al., 1993; CHAN et al., 1993; POL et al., 1993; KUHNS et al., 1994; MASUKO et al., 1994; McINTYRE et al., 1994; COUROUCÉ et al., 1995).

A ocorrência de hepatite C nesses pacientes tem sido associada principalmente ao número de unidades de sangue transfundido e a duração do tratamento dialítico. Diversos autores constataram que a prevalência de anti-VHC é maior nos indivíduos com antecedentes de hemotransfusão, aumentando à medida que se eleva o número de unidades de sangue recebidas (HAYASHI et al., 1991; ALFURAYH et al., 1992; AL NASSER et al., 1992; CONWAY et al., 1992; MULLER et al., 1992; SHEU et al., 1992; VANDELLI et al., 1992; KNUDSEN et al., 1993; MASUKO et al., 1994; DUSSOL et al., 1995). Embora a via parenteral seja sabidamente rota de transmissão do VHC, a ocorrência da infecção em hemodialisados sem antecedentes transfusionais indica a participação de outros mecanismos na disseminação da hepatite C nas unidades de diálise.

O tempo prolongado de permanência em tratamento dialítico é considerado fator de risco para aquisição do VHC, provavelmente por expor os pacientes à possibilidade de contaminação nosocomial, dada a frequência com que são submetidos a venopunções e a outros procedimentos invasivos. Observa-se aumento progressivo da prevalência do anti-VHC à medida que se prolonga a duração da hemodiálise (ELISAF et al., 1991; HAYASHI et al., 1991; LIN et al., 1991; CONWAY et al., 1992; AL NASSER et al., 1992; CARRERA et al., 1992; MITWALLI et al., 1992; MONDELLI et al., 1992; MULLER et al., 1992; VANDELLI et al., 1992; DUSSOL et al., 1995; FUJIYAMA et al., 1995; KAROHL et al., 1995).

O papel da infecção nosocomial na disseminação da hepatite C nas unidades de hemodiálise ganha destaque à medida que se aperfeiçoam os métodos

diagnósticos empregados pelos bancos de sangue na seleção dos doadores e se reduzem as necessidades transfusionais com o uso da eritropoetina (CENDOROGLO NETO et al., 1995). A contaminação cruzada entre hemodialisados pode ser ilustrada com estudo realizado por JADOUL et al. (1993), que documentaram frequência significativamente maior de soroconversão ao anti-VHC em indivíduos que dialisavam próximo a pacientes anti-VHC positivos. ALLANDER et al. (1994) identificaram no soro de três pacientes em hemodiálise — em tratamento na mesma unidade, porém dialisando em máquinas diferentes — a presença de seqüências genômicas idênticas do VHC. As rotas através das quais o vírus se dissemina nas unidades de diálise não estão totalmente elucidadas, mas as observações já referidas reforçam a necessidade da adoção de rigorosas medidas preventivas no manuseio do sangue e secreções dos pacientes: uso de materiais descartáveis, desinfecção eficaz de instrumentos e das máquinas de diálise entre as sessões de hemodiálise e limpeza constante das superfícies ambientais (ELISAF et al., 1991; JADOUL et al., 1993; SIMON et al., 1994; MARTIN e FRIEDMAN, 1995).

Alguns autores relatam correlação entre soropositividade ao anti-VHC e presença de marcadores da infecção pelo VHB e antecedentes de transplante renal (DUSSOL et al., 1995; KAROHL et al., 1995). A maior frequência de marcadores virais para o VHB nos pacientes anti-VHC positivos refletiria maior exposição a sangue contaminado, dada a semelhança nas rotas de transmissão dessas infecções nas unidades de diálise.

A infecção aguda pelo VHC nos hemodialisados é habitualmente assintomática ou com leves manifestações, cursando com elevação discreta ou moderada das aminotransferases. As alterações bioquímicas usualmente precedem em semanas ou meses a soroconversão (ELISAF et al., 1991; JADOUL et al., 1993; MEDIN et al., 1993; OLIVA et al., 1993; McINTYRE et al., 1994). Entretanto, SIMON et al. (1994) detectaram já na fase aguda da doença o aparecimento de anticorpos coincidindo com a elevação das enzimas hepáticas em 50% dos pacientes.

Os anticorpos formados tendem a persistir ao longo dos anos, e com grande frequência acompanham-se da presença de RNA viral no soro (SHEU et al., 1992; CHAN et al., 1993; POL et al., 1993; FABRIZI et al., 1994; SIMON et al., 1994).

Embora os hemodialisados anti-VHC positivos apresentem comumente elevação persistente ou flutuante da ALT (MONDELLI et al., 1991; ALFURAYH et al., 1992; CHAUVEAU et al., 1993; KNUDSEN et al., 1993; McINTYRE et al., 1994), significativo número deles mantêm níveis normais dessa enzima apesar de apresentarem viremia, o que denota falta de sensibilidade dos critérios bioquímicos para indicar a presença de infecção ativa pelo VHC nessa população (CHAN et al., 1993; POL et al., 1993; SIMON et al., 1994).

Contrastando com o grande volume de informações a respeito da epidemiologia e fatores de risco associados à infecção pelo VHC nos hemodialisados, são poucos os estudos relatando aspectos histopatológicos da doença nessa população, envolvendo, em geral, pequeno número de casos. Distúrbios de coagulação que acompanham a uremia representam fator limitante à realização de biopsia hepática. A esse respeito, ROSELLÓ et al. (1993) sugerem o emprego da via transjugular, baseados em experiência positiva com 17 hemodialisados portadores do VHC biopsiados por essa técnica, nos quais não se observou complicação alguma.

Trabalhos analisando os achados histopatológicos hepáticos em hemodialisados anti-VHC positivo mostram ampla variedade de lesões, desde alterações mínimas até hepatite crônica ativa, cirrose e hepatocarcinoma (ALFURAYH et al., 1992; CAMELO et al., 1993; POL et al., 1993; ROSELLÓ et al., 1993; ALMEIDA et al., 1994; FERNÁNDEZ et al., 1994; SIMON et al., 1994; DUSSOL et al., 1995). A presença de replicação viral associada a lesões hepáticas, algumas graves, em hemodialisados anti-VHC positivos sem evidência clínica e bioquímica de doença hepática reforça a necessidade do exame histopatológico na avaliação do comprometimento hepático pelo VHC nesses indivíduos (CAMELO et al., 1993; POL et al., 1993). Um dado interessante a salientar é que a presença de

viremia não está invariavelmente associada a injúria hepática, pois FERNÁNDEZ et al. (1994), ao avaliarem biopsias de quatro hemodialisados anti-VHC positivos (2PCR+ 2PCR-) com níveis normais de ALT, não encontraram alteração alguma no parênquima hepático.

As informações advindas desses estudos apontam para a importância da avaliação histopatológica hepática em hemodialisados portadores do VHC, independentemente dos níveis de aminotransferases, como forma de estadiar corretamente o grau de envolvimento do fígado pela doença. Tal avaliação se reveste de maior importância quando se considera que muitos desses pacientes são candidatos a transplante renal, condição que pode favorecer a progressão de lesões hepáticas preexistentes.

2.3 HEMODIÁLISE CRÔNICA E O FÍGADO

As hepatites virais B e C são as principais causas de disfunção hepática nos indivíduos em programa de hemodiálise. Além delas, esses pacientes estão sujeitos a outras formas de injúria hepática, como exposição a drogas hepatotóxicas (p. ex., metildopa); alterações congestivas por sobrecarga de volume e doenças cardiovasculares; acúmulo de metais e substâncias sintéticas, como silicone; desnutrição e ocorrência de doenças sistêmicas causadoras de lesão renal, como diabetes melito e amiloidose (PAHL et al., 1986; DRÜEKE, 1989; RODÉS e ARROYO, 1991).

Concentrações elevadas de diversos elementos como zinco, molibdênio, cádmio e alumínio têm sido demonstradas no parênquima hepático de hemodialisados, embora o papel patológico desses acúmulos não esteja esclarecido (DRÜEKE, 1989). KURUMAYA et al. (1989) descreveram, em hemodialisados com níveis elevados de alumínio sérico, a formação de múltiplos granulomas em fígado, baço e linfonodos com a presença do metal no citoplasma de macrófagos modificados, porém sem nenhuma disfunção hepática. Múltiplas hemotransfusões, administração de ferro e hemólise são fatores que favorecem a ocorrência de

hemossiderose, que pode associar-se a fibrose hepática (PAHL et al., 1986; DRÜEKE, 1989).

Partículas de silicone têm sido identificadas em biopsias hepáticas de hemodialisados. As lesões caracterizam-se pela presença de granulomas associados a graus variáveis de inflamação e fibrose, e sua incidência nessa população está em torno de 50%. A fonte da qual se desprende material fragmentado são os tubos de silicone constantes do segmento da bomba de sangue, devido ao estresse mecânico a que estão expostos. Embora a maioria dos pacientes sejam assintomáticos, alguns desenvolvem febre, hepatomegalia e elevação das aminotransferases (DRÜEKE, 1989; RODÉS e ARROYO, 1991).

Excluindo-se os achados histopatológicos atribuídos às hepatites virais, algumas alterações têm sido freqüentemente relatadas em biopsias de pacientes em programa de hemodiálise, como congestão hepática, fibrose periportal discreta, hiperplasia de células de Kupffer, triadite, esteatose, siderose e depósitos de silicone (PAHL et al., 1986; RODÉS e ARROYO, 1991; RAI et al., 1992).

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O estudo foi conduzido no período de junho de 1993 a janeiro de 1994 e avaliou pacientes com insuficiência renal crônica terminal (IRC) em programa de hemodiálise no Serviço de Nefrologia do Hospital Evangélico de Curitiba (HEC). A pesquisa foi desenvolvida em duas etapas consecutivas.

A primeira consistiu em estudo descritivo transversal, em que se determinaram, entre os pacientes em acompanhamento no referido serviço, os soropositivos ao anti-VHC, por método ELISA de segunda geração.

Na segunda etapa adotou-se modelo prospectivo coorte, constituído por um grupo selecionado de hemodialisados soropositivos ao anti-VHC, acompanhados mensalmente, durante seis meses, para registro do comportamento de seus níveis de ALT. No fim do período, os pacientes que apresentassem condições adequadas eram submetidos à biopsia hepática percutânea, e os achados histopatológicos eram correlacionados aos respectivos níveis de ALT.

3.2 PACIENTES E MÉTODOS: PRIMEIRA ETAPA

3.2.1 Pacientes

Na primeira etapa foram avaliados 113 pacientes com IRC em programa de hemodiálise no Serviço de Nefrologia do HEC no mês de junho de 1993. A amostra se constituiu de 68 homens (60,18%) e 45 mulheres (39,82%). A caracterização do grupo quanto à idade, tempo em hemodiálise e número de unidades de sangue transfundido, por paciente, está demonstrada na tabela 4. O número de sessões de hemodiálise a que foram submetidos variou de uma a três por semana, conforme as necessidades individuais dos pacientes.

TABELA 4 - ESTUDO DE 113 PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM PROGRAMA DE HEMODIÁLISE.

CARACTERÍSTICAS	MÉDIA±DESVIO PADRÃO	EXTREMOS
Idade (anos)	43,25±14,22	13-78
Tempo em hemodiálise (meses)	33,73±26,98	1-138
Nº de unidades de sangue transfundido, por paciente	7,54±8,24	0-45

3.2.2 Testes sorológicos

Todos os pacientes foram submetidos à determinação do anticorpo contra o vírus da hepatite C (anti-VHC) no Laboratório de Sorologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Para esta pesquisa coletou-se de cada paciente cerca de 5 ml de soro, dos quais uma alíquota de 2 ml foi armazenada em soroteca a -80°C.

Na determinação do anti-VHC, utilizou-se, de acordo com as especificações do fabricante, ensaio imunoenzimático qualitativo de segunda geração, que emprega peptídeos sintéticos correspondentes a segmentos altamente antigênicos das porções estrutural (cerne, i.e., *core*) e não estrutural (NS3 e NS4) do VHC (UBI HCV EIA, Organon Teknika B.V., Boxtel). Em virtude de não ter sido possível a realização do teste em duplicata, uma alíquota de cada amostra de soro estocada, conservada em gelo seco, foi enviada à Sessão de Hepatologia do 2º Departamento de Medicina Interna do Hospital da Universidade de Nagoya (Japão), para nova determinação do anti-VHC, sem conhecimento prévio dos resultados obtidos no Laboratório de Sorologia do Hospital de Clínicas da UFPR.

O método empregado no Hospital da Universidade de Nagoya foi o ensaio imunoenzimático qualitativo de segunda geração desenvolvido pelo Laboratório Abbott (ABBOTT HCV EIA 2nd Generation, Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois), que detecta anticorpos contra proteínas recombinantes expressas das regiões cerne, NS3 (C33-c) e NS4 (C100-3), do genoma do VHC.

Confrontados os resultados obtidos no Brasil e no Japão, consideraram-se positivas apenas as amostras de soro que haviam sido reagentes nas duas determinações.

3.3 PACIENTES E MÉTODOS: SEGUNDA ETAPA

3.3.1 Pacientes

Identificados os pacientes portadores de anti-VHC, selecionou-se uma amostra, a partir de informações deles próprios, somadas às extraídas de prontuários médicos, para acompanhamento mensal dos níveis de ALT por um período de seis meses, após o qual seriam submetidos à biopsia hepática percutânea. No processo de seleção da amostra os seguintes critérios de exclusão foram adotados:

- a) pacientes em trânsito com domicílio fora da região metropolitana de Curitiba, pela dificuldade de acompanhamento;
- b) pacientes soropositivos ao anti-VHC, apresentando simultaneamente AgHBs positivo ou anti-HBc positivo isolado. Adotou-se esse critério considerando que a co-infecção pelo VHB poderia suscitar dúvidas na interpretação das alterações bioquímicas e histopatológicas;
- c) antecedentes de transplante renal ou uso de drogas imunossupressoras, situações que poderiam alterar o curso natural da infecção;
- d) estado de saúde precário que inviabilizasse o acompanhamento por seis meses;
- e) consumo diário de álcool correspondente a mais de 40 gramas de etanol;
- f) não concordância em participar do estudo.

Respeitados os critérios acima, a amostra selecionada constituiu-se de 46 pacientes soropositivos ao anti-VHC, com idade média de $41,91 \pm 13,90$ anos (16 a 68 anos), sendo 28 homens (60,87%) e 18 mulheres (39,13%).

O grupo foi submetido a exame físico dirigido para a pesquisa dos seguintes sinais clínicos de doença hepática: icterícia, aranhas vasculares, eritema

palmar, ginecomastia, hepatomegalia, esplenomegalia, circulação colateral abdominal e ascite.

Os valores de ALT foram expressos em UK/ml (unidades Karmen por mililitro), sendo $N < 32$ UK/ml, segundo a metodologia adotada pelo laboratório utilizado na determinação. Considerou-se anormal qualquer valor que ultrapassasse 48 UK/ml de forma persistente ou intermitente. Para a designação do padrão persistente adotou-se o critério de mais de quatro elevações acima de 48 UK/ml nas seis determinações da ALT e intermitente pela alternância de pelo menos duas elevações anormais; já pacientes que apresentassem um único valor acima de 48 UK/ml e no seguimento prolongado (mínimo de seis meses) mantivessem níveis normais de ALT seriam classificados dentro do padrão normal.

Ao final dos seis meses, a amostra reduziu-se a 41 hemodialisados em virtude de cinco perdas ocorridas no período (quatro pacientes submetidos a transplante renal e um óbito). Para análise do comportamento bioquímico no período de estudo foram considerados apenas os 41 pacientes que concluíram o acompanhamento. Desses, apenas 30 foram submetidos à biopsia hepática. Houve recusa de 8 pacientes, e condições clínicas precárias inviabilizaram o procedimento em três.

3.3.2 Biopsia hepática

Foi realizada com o consentimento dos pacientes, após esclarecimento quanto a riscos e benefícios, e precedida de estudo da coagulação, considerando-se adequados os seguintes valores: tempo de protrombina até três segundos acima do controle, contagem de plaquetas igual ou superior a 100.000/dl e tempo de sangramento de até três minutos. No dia do exame os pacientes não eram submetidos à hemodiálise.

A biopsia percutânea se realizou na zona de maior maciez hepática à percussão, na linha axilar média, e os fragmentos de fígado foram obtidos com agulha de Menghini (1,4 mm). Após o procedimento, os pacientes receberam alta,

depois de permanecerem em observação por seis a doze horas, com controle periódico da pressão arterial e frequência do pulso.

3.3.3 Avaliação histológica

Os espécimes obtidos, imediatamente fixados em solução de formalina a 10%, foram encaminhados ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UFPR, passando por processamento histológico automatizado (desidratação em álcoois de concentração crescente, diafanização em xilol e inclusão em blocos de parafina), utilizando-se aparelho Auto-Technicon (Technicon, EUA).

Os cortes histológicos, com cerca de 3 μ m de espessura, foram submetidos às colorações de hematoxilina-eosina (H.E.), tricrômico de Gomori, ácido periódico de Schiff (PAS) com e sem digestão enzimática, impregnação argêntica para fibras de reticulina e, para estudo dos pigmentos contendo ferro, a coloração azul-da-prússia (método de Perls). O material foi examinado pelo autor e pelo patologista, sem conhecimento da identidade e dos dados clínicos e bioquímicos dos pacientes.

Foram considerados representativos os espécimes de biopsia que apresentassem 10 mm ou mais de extensão e contivessem pelo menos quatro espaços-porta (SHERLOCK, 1989; DEGOS et al., 1991). As lesões hepáticas foram classificadas de acordo com a Nomenclatura Internacional (BIANCHI et al., 1977). As seguintes categorias foram adotadas: fígado normal, hepatite crônica lobular, hepatite crônica persistente, hepatite crônica ativa e cirrose. O termo “alterações mínimas” foi utilizado para identificar espécimes que apresentassem achados inespecíficos, como focos intralobulares esparsos de necrose hepatocelular, esteatose discreta, hiperplasia de células de Kupffer ou infiltrado inflamatório portal difuso e discreto, restrito a poucos espaços-porta (ESTEBAN et al., 1991; SILINI et al., 1995; PRIETO et al., 1995). Depósitos de substâncias estranhas compatíveis com material sintético no parênquima hepático — quando não acompanhados de outras lesões significativas — foram também classificados sob o termo “alterações mínimas”.

Nos casos de hepatite crônica, a atividade necroinflamatória da doença foi graduada de acordo com índice de atividade histológica (IAH) proposto por KNOELL et al. (1981), com a ressalva de que foram avaliados apenas seus três primeiros componentes (necrose periportal com ou sem necrose em pontes; degeneração intralobular e necrose focal; inflamação portal). A exclusão do quarto componente, fibrose, se deveu à tendência atual de somente utilizá-lo para fim de estadiamento da doença (DESMET et al., 1994). Assim, o espectro de variação na graduação pelo IAH foi de 0 a 18, conforme se demonstra na tabela 5. A atividade da doença hepática nos quadros de hepatite crônica foi graduada em *mínima* (1-3), *leve* (4-8), *moderada* (9-12) e *severa* (13-18).

TABELA 5 - ÍNDICE DE ATIVIDADE HISTOLÓGICA (IAH) APLICADO NO PRESENTE ESTUDO.*

COMPONENTES	VARIAÇÃO NOS GRAUS (ESCORE)
I - Necrose periportal com ou sem necrose em pontes	0-10
II - Degeneração intralobular e necrose focal	0-4
III - Inflamação portal	0-4

* Componente excluído: fibrose. Adaptado de DESMET et al. (1994).

O estadiamento dos casos de hepatite crônica exposto na tabela 6 baseou-se no grau de fibrose e de alteração da arquitetura hepática, segundo índice proposto por SCHEUER (1991).

TABELA 6 - SISTEMA DE ESCORE PARA FIBROSE E CIRROSE.*

GRAU	FIBROSE
0	ausente
1	expansão fibrosa dos espaços-porta.
2	fibrose periportal ou porto-portal, com arquitetura preservada
3	fibrose com distorção da arquitetura, sem cirrose óbvia.
4	cirrose hepática definida

* Adaptado de SCHEUER, 1991.

O estudo do material foi complementado com a análise qualitativa (ausente/presente) dos seguintes achados histopatológicos, referidos como sugestivos da etiologia pelo VHC: agregados e/ou folículos linfóides portais, lesão ductal, infiltrado linfóide sinusoidal, esteatose, multinucleação de hepatócitos e displasia hepatocelular (LEFKOWITCH e APFELBAUM, 1989; SCHEUER et al., 1992; LEFKOWITCH et al., 1993). Considerou-se lesão ductal a presença de um ou mais dos seguintes achados: infiltrado inflamatório permeando a parede do ducto biliar, estratificação, perda da polaridade das células epiteliais, vacuolização citoplasmática, degeneração ou atividade mitótica no epitélio. Na presença de agregados e/ou folículos linfóides portais, determinou-se o percentual de espaços-porta envolvidos.

Após a conclusão da análise histológica das biopsias hepáticas, as alterações histopatológicas foram correlacionadas com o valor médio e com o padrão da ALT nos seis meses de acompanhamento.

3.3.4 Testes laboratoriais

Os exames bioquímicos utilizados na segunda etapa foram realizados no Laboratório do Hospital Evangélico de Curitiba:

- *alanina aminotransferase* (ALT): método espectrofotométrico, com resultados expressos em unidades Karmen (UK/ml). Valor de referência: 4-32 UK/ml;
- *tempo de protrombina*: determinação do tempo de Quick. Os resultados foram expressos em segundos, considerando-se normal o valor de 13 segundos, que corresponde a 100% de atividade da protrombina. Para fins de biopsia hepática, valores até 16 segundos (81%) foram considerados adequados;
- *contagem de plaquetas*: método direto, utilizando-se microscópio óptico com contagem em câmara de Neubauer. Valor de Referência: 150.000 a 450.000/dl;
- *tempo de sangramento*: realizado pelo método de Duke. Valor de referência = 1 a 3 minutos.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados constou da aplicação das seguintes técnicas:

- *teste “t” de Student*, para verificação da igualdade entre as médias de duas variáveis. Esta técnica foi empregada quando os dados eram oriundos de população gaussiana. Esta premissa foi verificada pelo teste de Filliben (FILLIBEN, 1975). A versão do teste “t” foi a clássica ou a de Aspin-Welch, conforme as variâncias fossem aceitas como iguais em um teste F (COSTA NETO, 1977);
- *teste de Wilcoxon-Mann-Whitney*, utilizado quando a gaussianidade não era alcançada pelos dados e o objetivo fosse a comparação das distribuições de duas variáveis (COSTA NETO, 1977);
- *teste Qui-Quadrado*, empregado para se certificar se duas ou mais proporções eram iguais (teste da homogeneidade de proporções) e as frequências esperadas eram de magnitude que permitisse o emprego desta técnica (COSTA NETO, 1977);
- *teste exato de Fisher*, utilizado na comparação de proporções quando as frequências esperadas eram de valores muito baixos (COSTA NETO, 1977)

Em todos os testes decidiu-se pela rejeição ou não da hipótese nula com base no valor p (aparece ao lado dos dados). A fim de padronizar este comportamento, adotou-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 PRIMEIRA ETAPA

4.1.1 Prevalência de anticorpos contra o VHC nos pacientes hemodialisados

Entre os 113 pacientes hemodialisados crônicos avaliados, 73 apresentaram soropositividade ao anti-VHC por método ELISA de segunda geração nas duas determinações realizadas, estabelecendo-se a prevalência de 64,6% (fig. 1).

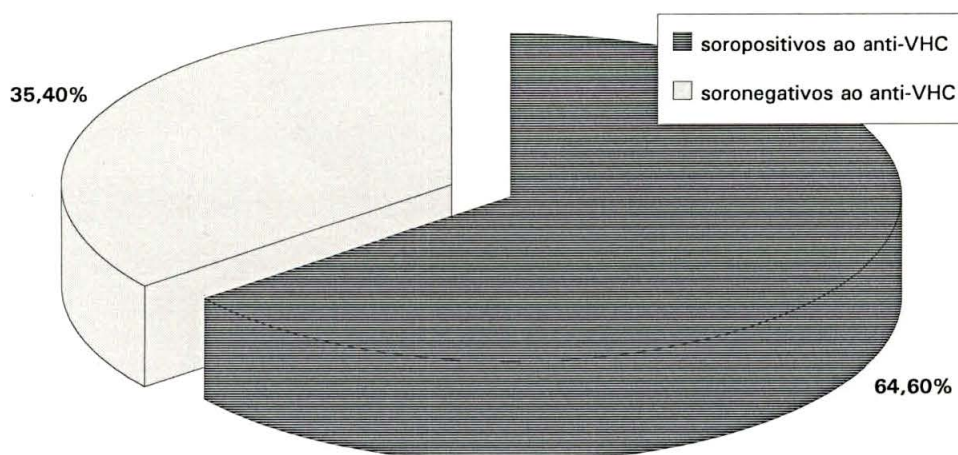


FIG. 1 - PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA O VHC (ELISA 2) EM 113 PACIENTES HEMODIALISADOS.

Comparando os resultados obtidos nas determinações realizadas no Brasil (UBI HCV EIA) e Japão (ABBOTT HCV EIA), constatou-se concordância da ordem de 96,46% entre os dois testes, ou seja, das 113 amostras de soro apenas 4 apresentaram resultados discordantes. (Anexo 1.)

4.2 SEGUNDA ETAPA

4.2.1 Características clínicas e bioquímicas dos pacientes hemodialisados anti-VHC positivos acompanhados por seis meses.

Durante seis meses 41 pacientes hemodialisados anti-VHC positivos assintomáticos foram acompanhados, com dosagem mensal do nível sérico de ALT.

A amostra constituiu-se de 26 homens (63,41%) e 15 mulheres (36,59%), cuja caracterização quanto à idade, tempo em hemodiálise e número de hemotransfusões por paciente está expressa na tabela 7. Convém salientar que 5 pacientes (12,19%) não apresentavam antecedentes transfusionais, o que sugere a participação de outra rota de contaminação. Nenhum dos 41 hemodialisados relatou quadro prévio de hepatite aguda ictérica.

TABELA 7 - ESTUDO DE 41 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ASSINTOMÁTICOS.

CARACTERÍSTICAS	MÉDIA±DP*	EXTREMOS
Idade (anos)	42,54±14,05	16-68
Tempo em hemodiálise (meses)	33,80±23,16	2-129
Nº de transfusões de sangue recebidas por paciente	7,07±6,27	0-129

* DP = desvio padrão.

O exame físico realizado no início do período de acompanhamento com a finalidade de detectar manifestações de doença hepática identificou a presença de hepatomegalia apenas em três pacientes.

De acordo com os critérios metodológicos adotados, o comportamento dos níveis séricos de ALT nos 41 hemodialisados foi classificado em três padrões: *normal*, *elevação persistente* ou *intermitente*. Mantiveram níveis normais de ALT ao longo dos seis meses de acompanhamento 36 pacientes (87,8%), enquanto 5 apresentaram elevações da enzima — 2 de forma persistente e 3 intermitente. A figura 2 ilustra a frequência com que ocorreram esses padrões na população estudada.

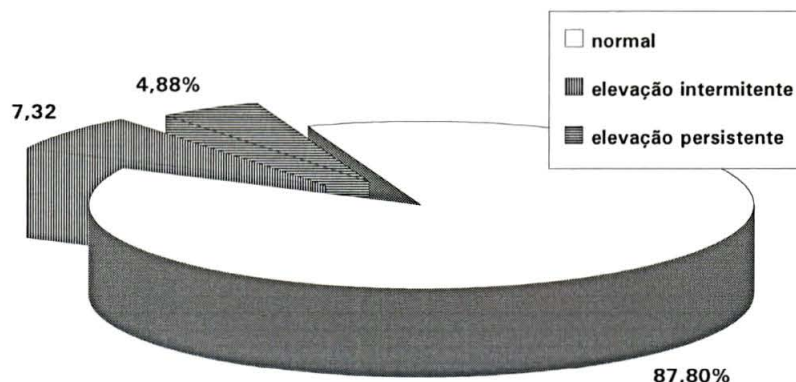


FIG. 2 - COMPORTAMENTO DO NÍVEL SÉRICO DE ALT EM 41 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS.

4.2.2 Características clínicas, comportamento dos níveis séricos de ALT e achados histológicos nos 30 pacientes hemodialisados anti-VHC positivos submetidos à biopsia hepática

Foram submetidos à biopsia hepática percutânea 30 pacientes — 19 homens (63,33%) e 11 mulheres (36,66%). Não houve diferença estatisticamente significativa quanto à distribuição por sexo e por idade, nem quanto às variáveis tempo em hemodiálise, número de hemotransfusões recebidas e valor médio da ALT entre o grupo submetido à biopsia hepática e o grupo não biopsiado, conforme demonstra a tabela 8.

TABELA 8 - CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E BIOQUÍMICAS DOS HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS BIOPSIADOS E NÃO BIOPSIADOS.

CARACTERÍSTICAS	PACIENTES		VALOR P
	BIOPSIADOS (N=30)	NÃO BIOPSIADOS (N=11)	
Sexo			0,99 ^a
- Masculino	19	7	
- Feminino	11	4	
Idade (anos)	41,80±15,49	44,55±9,41	0,59 ^b
Tempo em hemodiálise (meses)	35,47±24,17	29,27±20,51	0,28 ^c
Nº de transfusões de sangue recebidas por paciente	7,47±6,53	6,00±5,67	0,52 ^c
ALT (valor médio)	30,27±30,83	28,02±13,34	0,50 ^c

a) Teste qui-quadrado; b) teste "t"; c) teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

A tabela 9 retrata individualmente as características clínicas, o comportamento dos níveis séricos de ALT nos seis meses de seguimento e o diagnóstico histológico dos 30 pacientes submetidos à biopsia hepática. Apresentaram hepatomegalia ao exame físico 3 pacientes, que, entretanto, mantiveram níveis normais de ALT durante todo o período de acompanhamento. Foi excluído da análise histológica o caso nº 7 devido à escassez de espaços-porta no espécime de biopsia.

TABELA 9 - CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, PERFIL BIOQUÍMICO E DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO NOS HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS SUBMETIDOS À BIÓPSIA HEPÁTICA.

CASO Nº	IDADE (ANOS)	SEXO	EXAME FÍSICO	ALT (M±DP)	ALT (PADRÃO)	HISTOLOGIA
1	16	M	N	26,50±7,20	N	siderose
2	30	M	N	24,33±5,39	N	HCP
3	28	M	N	15,17±5,04	N	HCP
4	18	F	hepatomegalia	23,17±8,80	N	alt. mínimas
5	26	F	N	17,17±4,71	N	N
6	49	M	N	20,83±10,34	N	alt.mínimas
7	54	M	N	18,00±5,33	N	*
8	30	M	N	84,00±22,54	P	HCP
9	37	M	N	17,33±4,46	N	N
10	56	F	N	19,00±4,94	N	HCP
11	16	F	hepatomegalia	18,16±2,13	N	HCP
12	28	M	N	39,50±4,42	N	alt.mínimas
13	31	M	N	21,83±20,67	N**	HCP
14	29	M	N	23,67±5,65	N	HCA+siderose
15	68	M	N	18,67±4,08	N	N
16	27	F	N	176,83±21,74	P	alt.mínimas
17	64	F	N	18,83±4,54	N	N
18	44	F	N	19,67±6,53	N	HCA
19	51	M	N	18,00±4,47	N	alt.mínimas
20	58	M	N	12,83±1,83	N	HCP
21	60	M	N	36,33±4,27	N	HCA
22	43	M	N	24,83±5,71	N	alt.mínimas
23	31	M	N	25,00±7,77	N	alt. mínimas
24	62	M	N	26,00±5,83	N	HCP
25	54	F	hepatomegalia	26,50±10,19	N	HCP
26	43	F	N	17,00±3,41	N	HCP
27	67	F	N	22,83±3,92	N	HCP
28	41	F	N	26,33±7,03	N	HCP
29	48	M	N	18,00±5,48	N	alt.mínimas
30	45	M	N	51,67±11,34	I	N

NOTA: M±DP = média±desvio padrão, N = normal, I = intermitente, P = persistente, HCP = hepatite crônica persistente, HCA = hepatite crônica ativa.

* Material insuficiente para análise histológica.

** Considerou-se padrão normal, pois, apesar de uma determinação elevada (64 UK/ml), a normalidade das demais determinações foi corroborada por outras determinações normais nos seis meses seguintes após o término do estudo.

Os achados histopatológicos diagnosticados nos 29 espécimes analisados estão indicadas na figura 3. Apresentaram morfologia hepática preservada à biopsia 5 pacientes. Apesar de assintomáticos, 15 indivíduos (51,72%) eram portadores de hepatite crônica — 12 casos de hepatite crônica persistente (41,38%) e 3 de hepatite crônica ativa (10,34%) (figs. 4 e 5, p. 43).

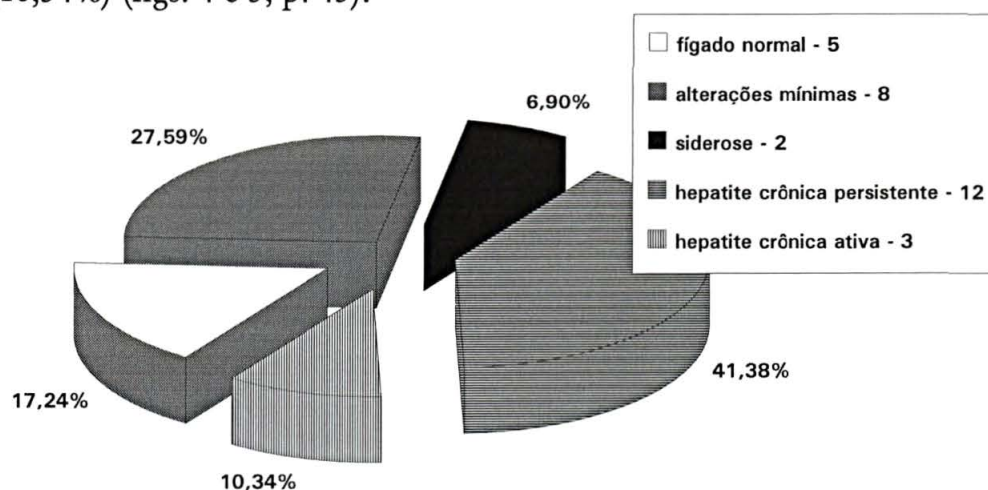


FIG. 3 - ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS NOS 29 ESPÉCIMES DE BIÓPSIA HEPÁTICA DE PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ASSINTOMÁTICOS.

Em dois pacientes (casos 3 e 16) realizou-se biópsia evolutiva cerca de 2 anos após o término desse estudo. No caso 3, cujo diagnóstico inicial foi de hepatite crônica persistente, houve agravamento da atividade inflamatória lobular acompanhada pela elevação intermitente da ALT nesse período. No caso 16, as alterações mínimas progrediram para hepatite crônica persistente com manutenção de níveis elevados da ALT nesses dois anos.

A atividade necroinflamatória e o estadiamento dos casos de hepatite crônica estão discriminados na figura 6 (p. 44) e na tabela 10 (p. 45). Na maioria dos casos a atividade da doença foi mínima, expressando-se sob a forma de infiltrado inflamatório mononuclear portal (componente III no IAH). Os fenômenos

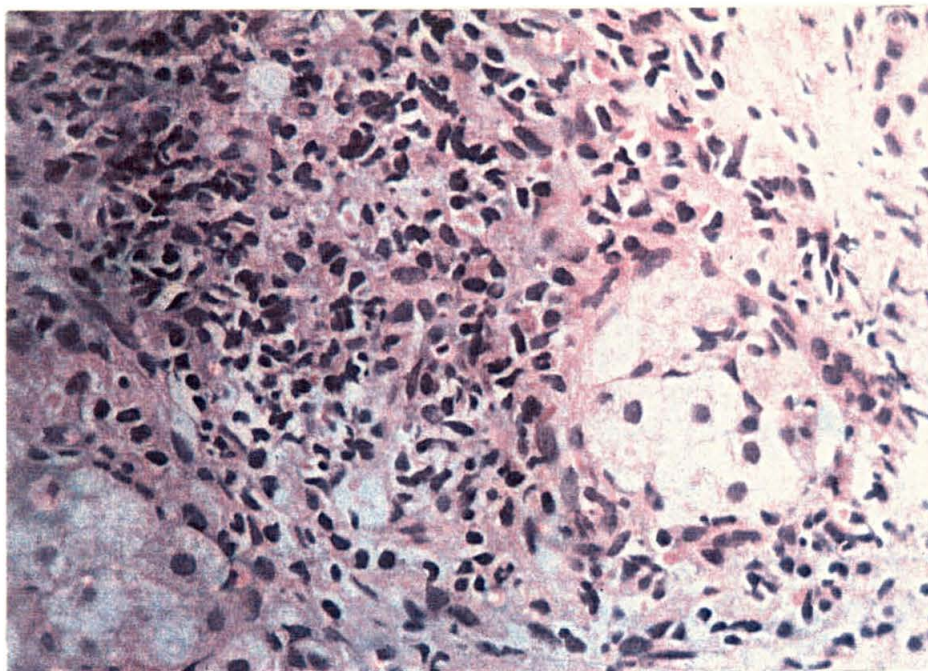


FIG. 4 - CASO 18. ALARGAMENTO PORTAL COM INFILTRADO INFLAMATÓRIO LINFOCITÁRIO DENSO, ENGLOBANDO HEPATÓCITOS NA PERIFERIA. (HE X 400.)

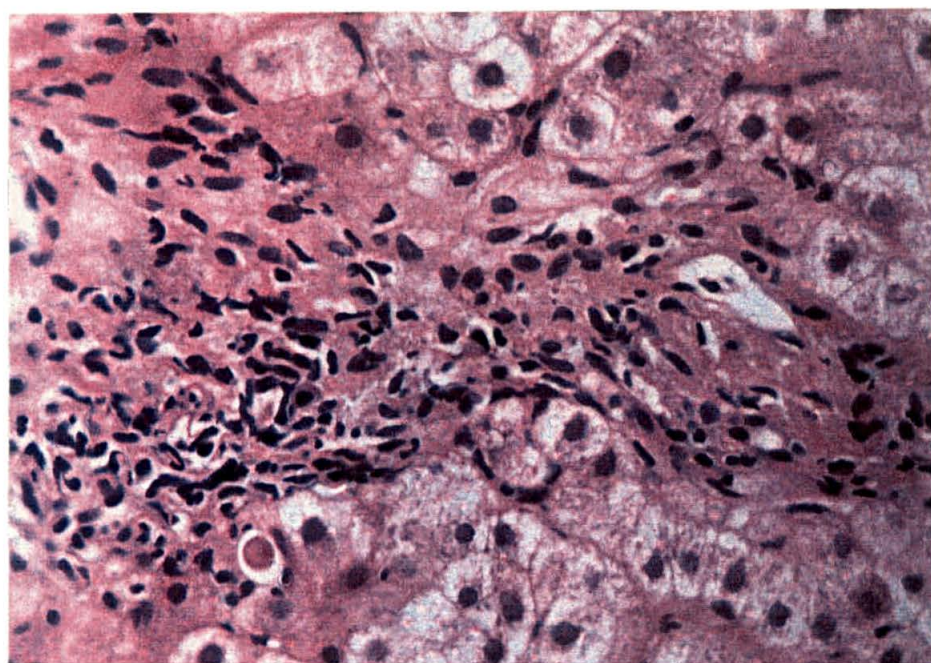


FIG. 5 - CASO 21. EXPANSÃO DO TECIDO CONJUNTIVO PORTAL, INFILTRADO LINFOCITÁRIO DISCRETO E NECROSE HEPATOCÍTICA FOCAL NA LÂMINA LIMITANTE. (HE X 400.)

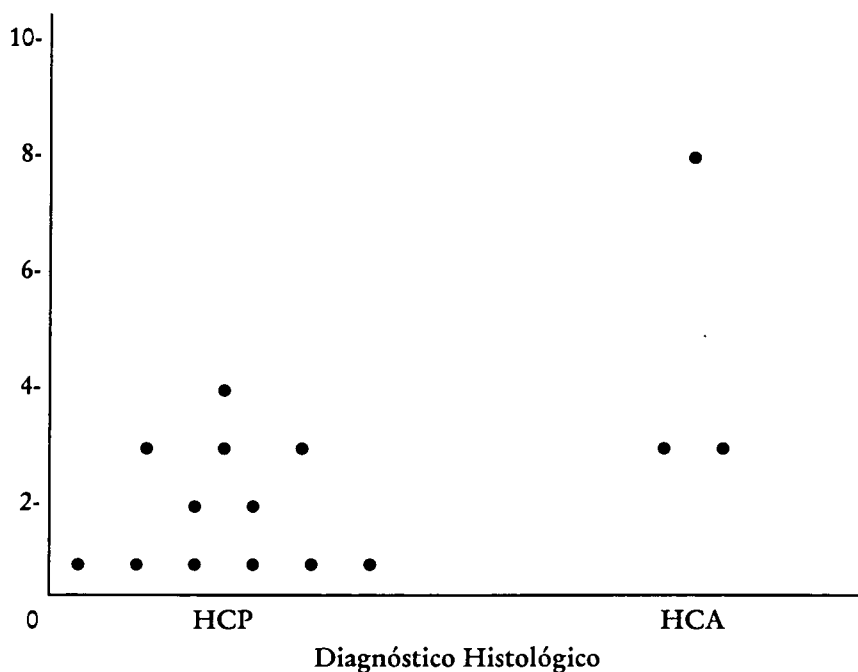


FIG. 6 - ÍNDICE DE ATIVIDADE HISTOLÓGICA* EM 15 CASOS DE HEPATITE CRÔNICA EM HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS.

necroinflamatórios lobulares, quando presentes, eram discretos mesmo nos casos de hepatite crônica ativa (fig. 7, p. 45). A fibrose foi incomum, ocorrendo apenas em 4 espécimes (casos 3, 14, 18 e 21), sob a forma de expansão portal nos três primeiros e como fibrose periportal esboçando septos no último (fig. 8, p. 46).

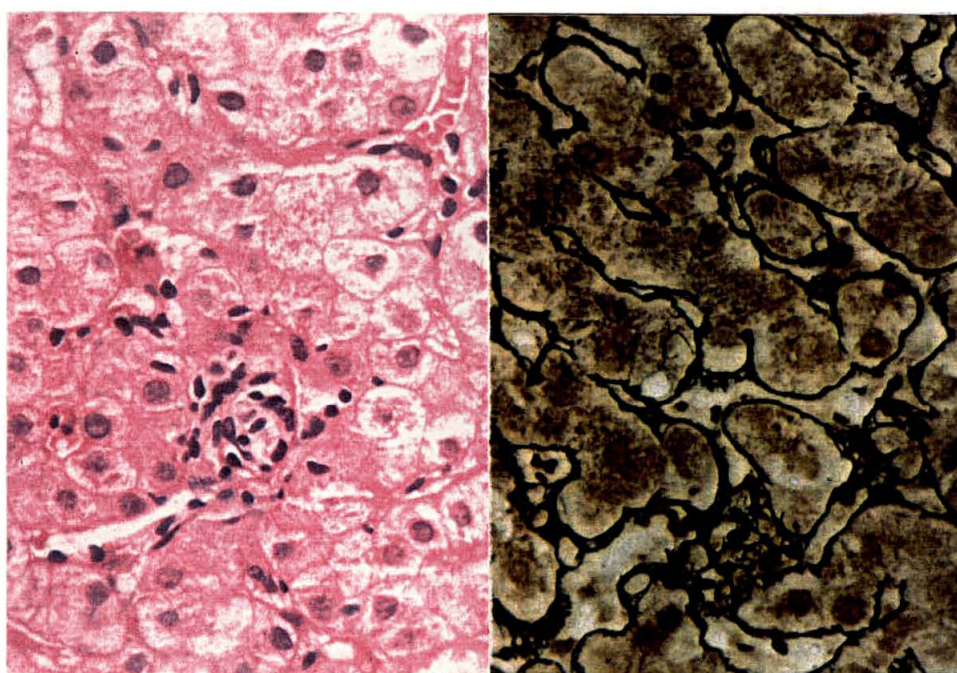
Alguns achados peculiares a pacientes submetidos a hemodiálise foram encontrados na amostra estudada. Depósitos de material estranho finamente granular, basófilo, PAS positivo e resistente à digestão por diastase no citoplasma de macrófagos, compatível com material sintético, foram observados nos casos 4 e 20 (fig. 9, p. 46). A siderose apresentou-se como um achado isolado no caso 1 e de intensidade leve; e acompanhando quadro de hepatite crônica ativa no espécime do caso 14, de intensidade moderada.(fig. 10, p. 47).

* Excluído o componente fibrose.

TABELA 10 - GRADUAÇÃO DA ATIVIDADE NECROINFLAMATÓRIA E ESTADIAMENTO NOS CASOS DE HEPATITE CRÔNICA.

CASO N°	DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO	COMPONENTES*(IAH)				GRAU DE ATIVIDADE	ESTADIAMENTO
		I	II	III	Escore		
2	HCP	0	0	1	1	mínima	0
3	HCP	0	0	3	3	mínima	1
8	HCP	0	0	1	1	mínima	0
10	HCP	0	1	1	2	mínima	0
11	HCP	0	1	3	4	leve	0
13	HCP	0	0	3	3	mínima	0
14	HCA	3	1	4	8	leve	1
18	HCA	1	1	1	3	mínima	1
20	HCP	0	0	1	1	mínima	0
21	HCA	1	1	1	3	mínima	2
24	HCP	0	1	1	2	mínima	0
25	HCP	0	0	1	1	mínima	0
26	HCP	0	1	1	2	mínima	0
27	HCP	0	0	1	1	mínima	0
28	HCP	0	0	3	3	mínima	0

*Componentes: I = necrose periportal com ou sem necrose em pontes; II = degeneração intralobular e necrose focal; III = inflamação portal.



A

B

FIG. 7 - CASO 16 A - DIMINUTO FOCO DE HEPATOCITÓLISE E INFILTRADO MONONUCLEAR (HE X 400);
B - ÁREA DE PROLIFERAÇÃO DO RETÍCULO COMPATÍVEL COM FOCO DE NECROSE HEPATOCELULAR. (RETICULINA X 400.)

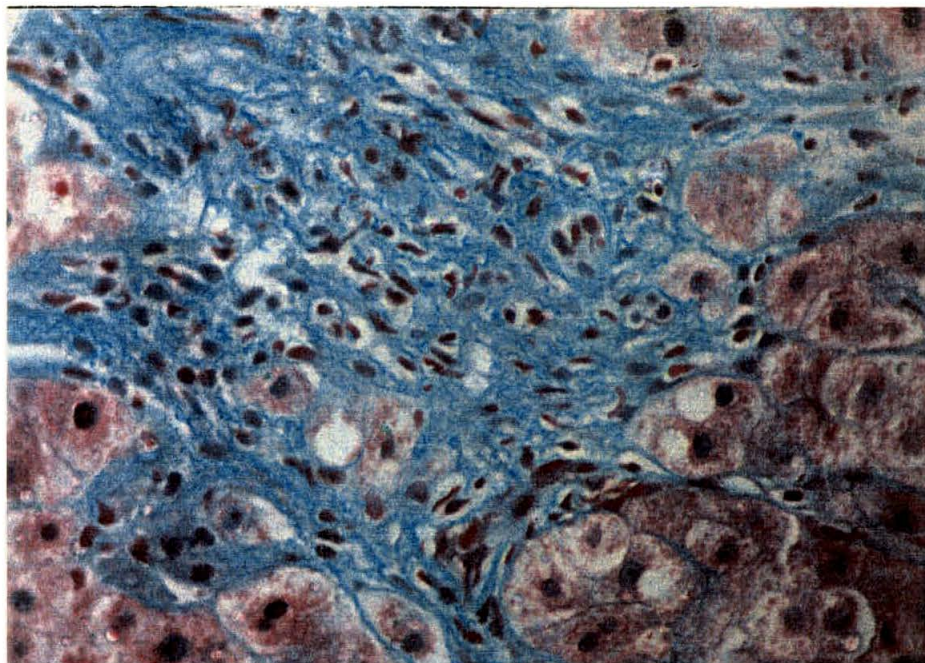


FIG. 8 - CASO 21. FIBROSE PERIportal COM SEPTOS INCIPIENTES. (GOMORI X 400.)

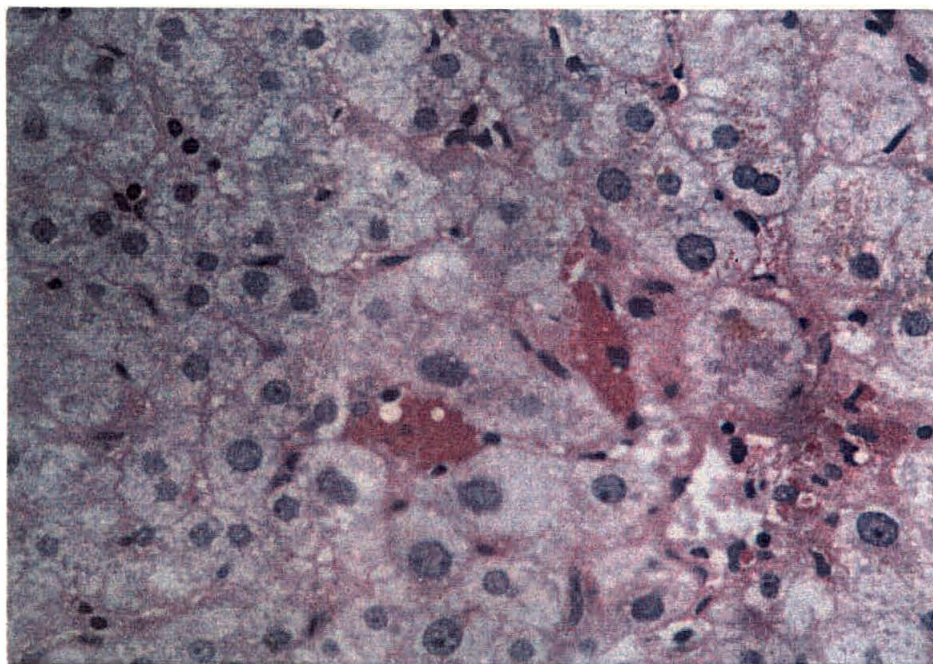


FIG. 9 - CASO 4. MACRÓFAGOS CONTENDO MATERIAL PAS-POSITIVO RESISTENTE À DIGESTÃO. COMPATÍVEL COM MATERIAL ESTRANHO. (PAS X 400.)

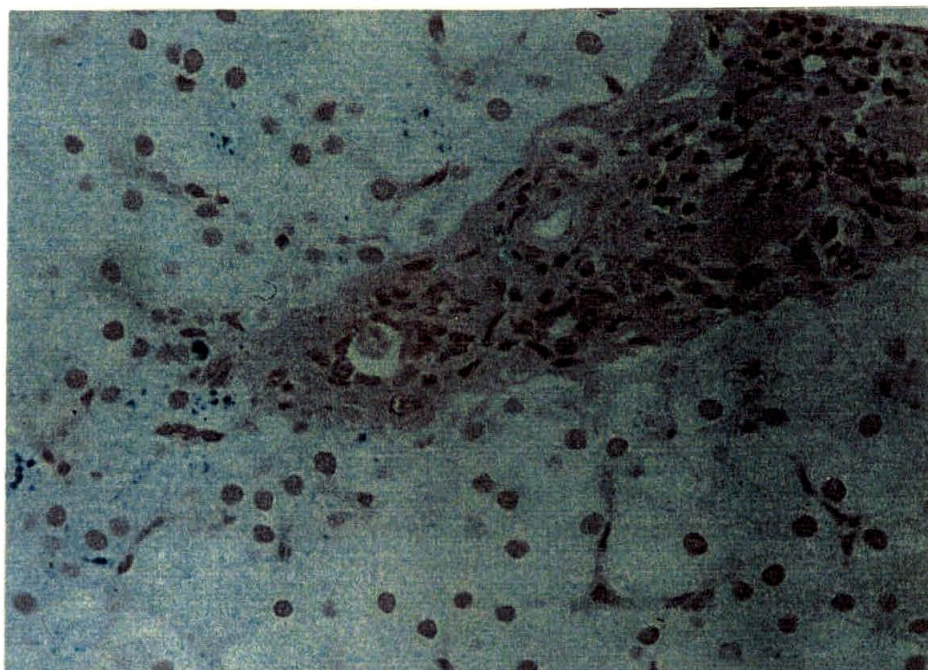


Fig. 10 - CASO 1. DEPÓSITO DE HEMOSIDERINA EM HEPATÓCITO DA ZONA 1 DO ÁCINO HEPÁTICO. (PERLS X 400.)

Na pesquisa dirigida para achados histopatológicos considerados sugestivos de lesão hepática pelo VHC, as alterações mais frequentes foram agregados linfóides nos espaços-porta (48,27%) e infiltrados linfocitários sinusoidais (34,48%) (figs. 11 e 12, p. 48), ocorrendo ainda, com frequência menor, lesão ductal (17,24%) e displasia hepatocelular (10,34%) (tabela 11).

TABELA 11 - EXAME HISTOPATOLÓGICO EM 29 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ASSINTOMÁTICOS.

ACHADO HISTOPATOLÓGICO	PACIENTES	
	Nº	%
Agregados linfóides portais	14	48,27
Infiltrado linfocitário sinusoidal	10	34,48
Lesão ductal	5	17,24
Displasia hepatocelular	3	10,34
Multinucleação de hepatócitos	0	0
Esteatose	0	0

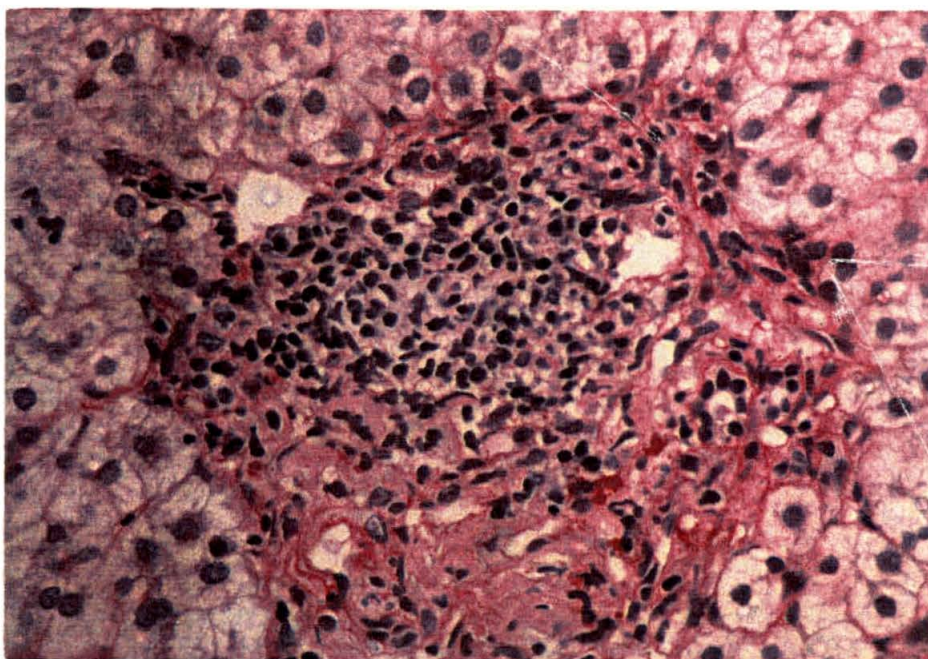


FIG. 11 - CASO 3. HCP COM AGREGADO LINFÓIDE BEM DELIMITADO E FIBROSE PORTAL. (HE X 400.)

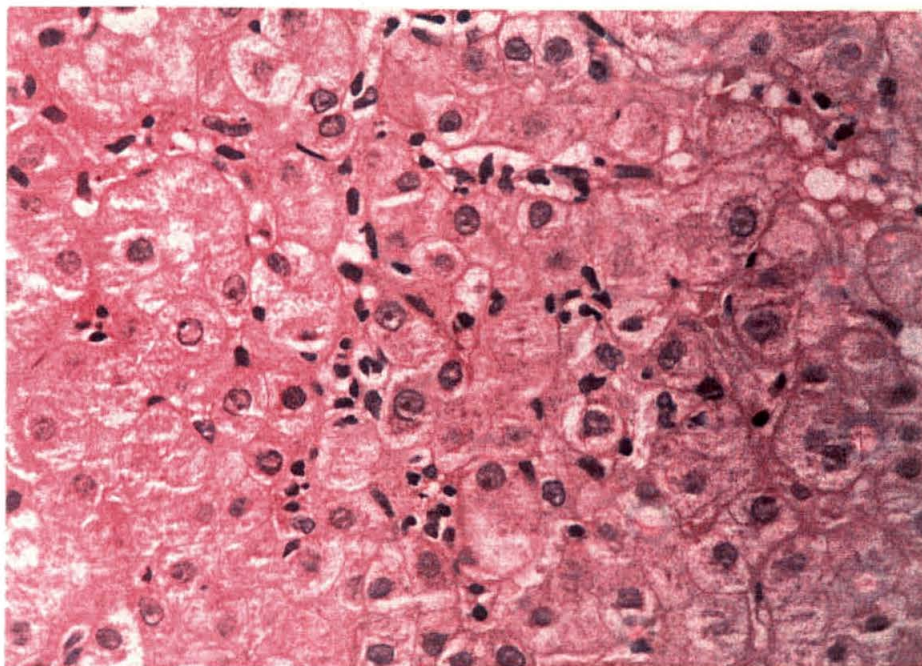


FIG. 12 - CASO 16. PRESENÇA DE LINFÓCITOS INTRA-SINUSOIDAIS E DISCRETA HIPERPLASIA DE CÉLULAS DE KUPFFER. (HE X 400.)

O envolvimento dos tratos portais por agregados linfóides apresentou-se, caracteristicamente, como fenômeno focal. De fato, a tabela 12 demonstra que quando presentes, os agregados linfóides envolveram menos de 1/3 dos espaços-porta em 78,57% dos casos. Lesão ductal foi evidenciada em 5 espécimes, manifestando-se na maioria dos casos pelo binômio raros linfócitos intra-epiteliais e vacuolização discreta do epitélio ductal. Igualmente discreta foi a expressão morfológica do fenômeno displasia dos hepatócitos, representada por anisonucleose e hipercromasia nuclear.

TABELA 12 - PROPORÇÃO DOS ESPAÇOS-PORTA COM AGREGADOS LINFÓIDES EM PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS.

ESPAÇOS-PORTA COM AGREGADOS LINFÓIDES	PACIENTES (N = 14)	
	Nº	%
< 1/3 do total de espaços-porta	11	78,57
1/3 a 2/3 do total de espaços-porta	2	14,28
> 2/3 do total de espaços-porta	1	7,14

Correlacionando os achados histopatológicos ao padrão da ALT, constatou-se que 14 dos 15 pacientes com hepatite crônica, inclusive os três casos de hepatite crônica ativa, mantiveram níveis normais da enzima durante todo o período de acompanhamento (tabela 13). Elevação intermitente dos níveis de ALT foi encontrada em um único caso, cuja histologia hepática estava preservada. Apresentaram elevação persistente da ALT 2 pacientes, um com hepatite crônica persistente e outro com alterações mínimas.

TABELA 13 - ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS HEPÁTICAS E SUAS RELAÇÕES COM A ATIVIDADE DA ALT EM 29 PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS.

	ALT NORMAL		ALT ELEVADA		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Fígado normal	4	13,79	1	3,45	5	17,24
Siderose isolada	1	3,45	—	—	1	3,45
Alterações mínimas	7	24,14	1	3,45	8	27,59
HCP	11	37,93	1	3,45	12	41,38
HCA	3	10,34	—	—	3	10,34

A fim de verificar se os níveis séricos da ALT correlacionam-se com presença e gravidade das lesões hepáticas em hemodialisados anti-VHC positivos, realizou-se estudo comparativo do comportamento dessa enzima (tabelas 14 e 15) entre os pacientes com histologia hepática preservada ou com alterações estruturais mínimas (grupo A) e os portadores de hepatite crônica (grupo B).

TABELA 14 - ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O PADRÃO DA ALT E ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM BIÓPSIAS HEPÁTICAS EM PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS.

	ALT NORMAL	ALT ELEVADA	VALOR P
	Nº	Nº	
Grupo A (n=14)	12	2	0,15* (NS)
Grupo B (n=15)	14	1	

Grupo A = fígado normal (5), siderose isolada (1), alterações mínimas (8);

Grupo B = hepatite crônica persistente (12), hepatite crônica ativa (3);

NS = diferença estatisticamente não significativa.

* Teste exato de Fisher.

TABELA 15 - ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O VALOR MÉDIO DA ALT E AS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS.

	ALT (MÉDIA±DP)	VALOR P
Grupo A (n=14)	35,50±41,80	0,86*(NS)
Grupo B (n=15)	26,24±16,96	

Grupo A= fígado normal (5), siderose isolada (1), alterações mínimas (8);

Grupo B= hepatite crônica persistente (12), hepatite crônica ativa (3);

NS = diferença estatisticamente não significativa.

* Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

A análise estatística não identificou diferença significativa entre os grupos A e B, não se observando correlação entre os valores da ALT e a presença e gravidade da injúria hepática na população estudada.

5 DISCUSSÃO

5.1 PREVALÊNCIA DA HEPATITE C EM PACIENTES HEMODIALISADOS

As hepatites virais B e C constituem, ainda hoje, complicação comum nos centros de diálise. A maior suscetibilidade dos hemodialisados para desenvolver tais complicações se deve às freqüentes hemotransfusões a que se submetem, indicadas para correção de anemia (distúrbio comum nessa população), bem como aos numerosos procedimentos invasivos a que são habitualmente sujeitos (FAVERO, 1986; KHAN et al., 1993).

O estado de imunossupressão que acompanha a uremia atua como fator agravante, favorecendo a cronicidade das hepatites B e C, tornando pacientes das unidades de diálise portadores crônicos, reservatórios permanentes desses vírus. Além da linfopenia moderada, comum em hemodialisados, uma ampla variedade de anormalidades funcionais tem sido documentada, como a supressão da hipersensibilidade retardada a diferentes estímulos, a resposta proliferativa alterada a vários mitógenos, a redução da síntese de imunoglobulinas pelas células B e o aumento da atividade supressora das células T. Também foram observadas anormalidades na produção de linfocinas, redução na produção de gama-interferon — importante para a ativação de macrófagos — e de interleucina-2 — que ativa linfócitos B e estimula a diferenciação das células T (GOLDBLUM et al., 1980; KHAN et al., 1993).

Uma das manifestações clínicas da supressão da imunidade nos hemodialisados é a incapacidade de montar resposta imunológica adequada ante as hepatites virais. Ilustram esse problema os elevados índices de cronicidade da hepatite B nessa população (acima de 60%) quando comparados aos observados na população geral (5 a 10%) (GOLDBLUM et al., 1980) e o diagnóstico de infecção

pelo VHC, confirmado pela presença de RNA viral no soro de hemodialisados, sem anticorpos detectáveis por métodos sorológicos sensíveis (BUKH et al., 1993; KUHNS et al., 1994; MASUKO et al., 1994).

As duas últimas décadas assistiram a significativo declínio do número de casos de hepatite B nos centros de hemodiálise, fruto da rigorosa seleção de doadores de sangue e da adoção de medidas profiláticas — como o isolamento dos pacientes infectados, a determinação periódica do AgHBs para identificação de novos casos e a vacinação dos não imunes (SZMUNESS et al., 1974; FAVERO, 1986).

A partir dos anos 70, com a disponibilidade de marcadores sorológicos específicos para os vírus das hepatites A e B, verificou-se a ocorrência de casos de hepatite NANB em hemodialisados — alertando para a possível participação de outros agentes etiológicos (GALBRAITH et al., 1979, GITNICK et al., 1983; MARCHESI et al., 1988). Em 1989, a clonagem de parte do genoma do VHC e o desenvolvimento de ensaio sorológico para detecção de anticorpos contra a proteína recombinante C100-3 permitiram a caracterização do principal agente envolvido nos casos de hepatite NANB (CHOO et al., 1989; KUO et al., 1989).

Em 1967 Deihardt e colaboradores (*apud* (KARAYIANNIS e McGARVEY, 1995) isolaram um agente viral que recebeu a denominação de VGB em virtude de provir de um caso de hepatite aguda que acometeu um cirurgião, cujas iniciais do nome eram GB. A transmissão da doença inoculando sagüis suscitou controvérsias por julgarem alguns pesquisadores que a inoculação apenas reativara nos animais uma hepatite latente. Estudos subseqüentes, e mais modernamente, vieram confirmar a origem humana da hepatite GB e a discriminação de três vírus distintos que apresentam grande homologia nas seqüências das helicases. São vírus RNA da família Flaviviridae, hoje destacados em três espécies: A (VHGB-A), B (VHGB-B) e C (VHGB-C) (KARAYIANNIS e Mc GARVEY, 1995). Estudos de homologia mostram ainda que o VHGB-C muito

se assemelha ao vírus da hepatite C, porém sua sequência de nucleotídeos não permite que se enquadrem na mesma espécie.

Outro vírus muito homólogo ao VHGB-C foi recentemente relatado e se designa simplesmente como vírus G, pela similaridade muito estreita com o VHGB-C; podem vir a ser considerados como genótipos do mesmo vírus (LINNEN et al., 1996, *apud* MASUKO et al., 1996). Trata-se de um vírus RNA da família Flaviviridae, transmissível pela via parenteral e capaz de desenvolver hepatite aguda e crônica pós-transfusional. Esse novo vírus passa, portanto, a ser de interesse como co-agente (com o VHC e o VHB) das hepatites verificadas entre hemodialisados e como causa de recidiva de hepatite em pacientes que sofreram transplante hepático (FRY et al., 1995; ZHANG et al., 1995; BERENGUER et al., 1996; MASUKO et al., 1996; ALTER, H.J., 1996).

Numerosos estudos epidemiológicos conduzidos após 1989 verificaram que a prevalência de anticorpos contra o VHC nos indivíduos em programa de hemodiálise é expressivamente superior à encontrada na população em geral, variando de 3,9% a 84,25%, conforme demonstra a tabela 2 (p. 23). Isso se acentua quando são empregados testes sorológicos que detectam anticorpos contra antígenos derivados das regiões estrutural e não estrutural do genoma viral (tabelas 2 e 3, p. 23 e 24). A maior sensibilidade dos testes de segunda geração, particularmente nos hemodialisados, explica-se pelo fato de que, devido ao estado de imunossupressão, tais indivíduos apresentam baixa reatividade à proteína C100-3, comparada à verificada perante os antígenos C22-3 e C33-c (LOK et al., 1993).

O presente estudo avaliou 113 hemodialisados quanto à presença de anticorpos contra o VHC, atendidos em um centro de hemodiálise na cidade de Curitiba, por método ELISA 2. A prevalência de indivíduos soropositivos ao anti-VHC atingiu o índice de 64,6%, figurando entre os mais elevados descritos na literatura nacional e estrangeira (tabela 2, p. 23). No âmbito nacional, o resultado obtido assemelha-se muito aos mencionados por ALMEIDA et al. (1994), que encontraram 62% de pacientes anti-VHC positivos (ELISA 2) em um centro de

diálise na cidade de Porto Alegre (RS), e por YOSHIDA et al. (1993), que referem prevalência de 68% de hemodialisados soropositivos em um centro de diálise na cidade do Rio de Janeiro (RJ). Dois outros trabalhos de grupos brasileiros realizados com o mesmo objetivo e empregando teste ELISA 2 — um envolvendo 242 hemodialisados na cidade de Porto Alegre (KAROHL et al., 1995) e outro, 92 pacientes em Natal (RN) (SACONATO et al., 1994) — encontraram índices menores, respectivamente 29,8% e 31,5% de prevalência de anti-VHC.

É interessante salientar que níveis elevados de prevalência do anti-VHC pelo método ELISA 2 superiores a 50% foram identificados em outros países, sob diferentes condições de desenvolvimento socioeconômico, como Itália (COLOMBO et al., 1992; MONDELLI et al., 1992), França (CHAUVEAU et al., 1993), Bulgária (ROUSSINOV et al., 1993), Macedônia (MASIN et al., 1993) e México (ALBERÚ et al., 1994) (tabela 2). Tal fato confirma que a hepatite C representa hoje grave problema de saúde pública, que aflige milhões de hemodialisados em todo o mundo, sendo a principal causa de disfunção hepática nessas populações (DRUWÉ et al., 1994; MARTIN e FRIEDMAN, 1995).

Embora seja recomendável a realização do teste suplementar RIBA 2 nas amostras de soro reagentes para o anti-VHC por método ELISA 2, no presente estudo tal prática não foi possível em virtude da não disponibilidade do método no laboratório utilizado na época de sua realização. Optou-se, então, por considerar positivas apenas as amostras repetidamente reagentes em duas determinações distintas, para as quais se empregaram ensaios imunoenzimáticos diferentes (UBI HCV EIA e ABBOTT HCV EIA). Comparando os resultados obtidos nas determinações pelos dois métodos, verificou-se concordância da ordem de 96,46% entre os testes, ou seja, das 113 amostras de soro, apenas 4 apresentaram resultados discordantes. A elevada concordância entre os dois testes forneceu, destarte, maior credibilidade na interpretação dos resultados repetidamente positivos ou negativos.

DENTICO et al. (1992), ao empregarem dois ensaios imunoenzimáticos de 2ª geração na pesquisa de anti-VHC em 293 hemodialisados (ORTHO HCV

ELISA Test System 2nd Generation e ABBOTT HCV EIA 2nd Generation), encontraram também concordância expressiva entre os resultados dos dois testes (98,3%). Esses autores verificaram que 91,9% das amostras soropositivas pelo ensaio ORTHO e 100% das positivas pelo ensaio ABBOTT (um dos testes empregados no presente estudo) foram confirmadas pelo método RIBA 2, reforçando a observação de outros pesquisadores de que os testes ELISA 2 apresentam boa sensibilidade e especificidade como método de *screening* para infecção pelo VHC (H.J. ALTER, 1992; McHUTCHISON et al., 1992).

CHAN et al. (1993), ao avaliarem 51 hemodialisados quanto à presença de infecção pelo VHC empregando ensaios imunoenzimáticos de 1^a e 2^a geração e PCR, encontraram em 72,7% dos casos presença de RNA viral no soro, o que demonstra boa correlação entre positividade do teste ELISA 2 e a presença de viremia nessa população. Índices igualmente elevados foram também registrados por outros autores, variando de 66 a 90% (SHEU et al., 1992; BUKH et al., 1993; POL et al., 1993; FERNÁNDEZ et al., 1994; KUHNS et al., 1994; MASUKO et al., 1994; McINTYRE et al., 1994). A partir desses dados é possível supor que a grande maioria dos pacientes anti-VHC positivos detectados no presente estudo sejam portadores do VHC.

Apesar do elevado índice de hemodialisados anti-VHC positivos identificados neste estudo (64,6%), convém salientar que a real prevalência da infecção pelo VHC em hemodialisados é subestimada quando se adotam apenas métodos sorológicos, pois nesses indivíduos a montagem de uma resposta imunológica adequada está prejudicada pela imunossupressão (BUKH et al., 1993; SAKAMOTO et al., 1993; KUHNS et al., 1994; MASUKO et al., 1994).

Diversos estudos epidemiológicos a respeito da hepatite C em hemodialisados têm procurado demonstrar que dois fatores freqüentemente se associam à soropositividade ao anticorpo: o elevado número de hemotransfusões e o tempo prolongado em tratamento dialítico (ELISAF et al., 1991; HAYASHI et al., 1991; LIN et al., 1991; ALFURAYH et al., 1992; AL NASSER et al., 1992;

CARRERA et al., 1992; CONWAY et al., 1992; MITWALLY et al., 1992; MONDELLI et al., 1992; MULLER et al., 1992; SHEU et al., 1992; VANDELLI et al., 1992; KNUDSEN et al., 1993; MASUKO et al., 1994; DUSSOL et al., 1995; FUJIYAMA et al., 1995; KAROHL et al., 1995).

Nos 113 pacientes estudados, cuja prevalência de anti-VHC se mostrou em torno de 64%, o número de hemotransfusões e o tempo de hemodiálise foram respectivamente $7,54 \pm 8,24$ unidades de sangue (0-45) e $33,73 \pm 26,98$ meses (1-138). Embora não se tenha analisado no presente estudo a participação de tais fatores na prevalência da hepatite C nessa população, algumas considerações parecem pertinentes.

A verificação de que 99 dos 113 pacientes avaliados e 65 dos 73 soropositivos apresentaram antecedentes transfusionais confirma a situação de risco a que tais indivíduos são freqüentemente expostos, isto é, às contaminações pela via parenteral. A informação obtida junto ao Banco de Sangue que atende a unidade de diálise, de que os marcadores que substituem os da hepatite C (anti-HBc total e ALT) e anti-VHC foram introduzidos posteriormente à época da realização deste estudo e o uso restrito da eritropoetina permite a conclusão de que essas deficiências possam ter contribuído para a transmissão da hepatite C a esses pacientes.

Por outro lado, a verificação de que 8 dos 73 pacientes soropositivos não apresentaram antecedentes transfusionais sugere a participação de outras rotas de transmissão que não a hemotransusão, fato já assinalado na literatura (HAYASHI et al., 1991; VANDELLI et al., 1992; JADOUL et al., 1993; McINTYRE et al., 1994; FUJIYAMA et al., 1995). Tal fato vem ao encontro da tendência atual de valorização da infecção nosocomial como veículo de disseminação do VHC nas unidades de diálise (CENDOROGLO NETO et al., 1995; MARTIN e FRIEDMAN, 1995). Diversos autores identificaram a duração do tratamento em hemodiálise como um fator de risco independente para aquisição do VHC (HAYASHI et al., 1991; CONWAY et al., 1992; MULLER et al., 1992; DUSSOL et al., 1995; FUJIYAMA et al., 1995; KAROHL et al., 1995). Parece óbvio que

maior tempo de exposição e procedimentos invasivos que acompanham o tratamento dialítico representem elementos de importância na incidência da doença, mesmo guardadas todas as precauções com o máximo rigor.

Não menos importante que a simples observação da elevada prevalência de anti-VHC em hemodialisados seria a elucidação dos mecanismos através dos quais ocorre a infecção cruzada pelo VHC entre esses pacientes. Tal esclarecimento, requisito indispensável para a prevenção eficiente da doença, tem representado significativo estímulo para o surgimento de trabalhos na literatura (YOSHIDA et al., 1993; JADOUL et al., 1993; ALLANDER et al., 1994; CAMELO et al., 1994). Esses estudos apontam a falha no cumprimento das medidas universais de precaução no manuseio de sangue e secreções como fator relevante na disseminação da hepatite C nas unidades de diálise, por favorecerem a contaminação de superfícies ambientais, de instrumentos e de locais de venopunção. O achado de alta prevalência neste estudo, evidentemente, conduz à conclusão de falhas na obediência aos preceitos básicos acima referidos.

Por isso, a adoção de cuidados rigorosos, aliada ao uso de material descartável e desinfecção adequada de máquinas dialisadoras, instrumentos e superfícies ambientais têm reduzido a incidência de hepatite C em diversos centros de diálise (FABRIZI et al., 1994; SIMON et al., 1994; BLUMBERG et al., 1995; FUJIYAMA et al., 1995). Além disso, BLUMBERG et al. referem redução da incidência da hepatite C em hemodialisados, após o emprego de máquinas de uso exclusivo dos pacientes anti-VHC positivos.

ALLANDER et al. (1994) questionam a importância das máquinas dialisadoras na transmissão do VHC em unidades de diálise. Investigando três casos de soroconversão simultânea ao anti-VHC em indivíduos atendidos na mesma sala de unidade de diálise, utilizando, porém, máquinas diferentes, identificaram, em todos os casos, seqüências genômicas idênticas de DNA complementar do VHC. Os autores sugerem que os freqüentes procedimentos invasivos a que estão sujeitos os pacientes propiciam a contaminação das superfícies e instrumentos com pequenas

quantidades de sangue infectado pelo VHC. Nesse contexto, falhas ocasionais, muitas delas não reconhecidas, são suficientes para permitir a infecção cruzada nas unidades de diálise. Argumentam, ainda, que o isolamento de pacientes contaminados pelo VHC é prejudicado pela dificuldade de diagnóstico precoce da infecção e porque um número considerável de casos permanecem soronegativos por longos períodos, apesar de comprovadamente virêmicos e, portanto, infectantes.

Um estudo desenvolvido por CAMELO et al. (1994), empregando a técnica da PCR para avaliar a presença de RNA viral no ultrafiltrado de hemodiálise em pacientes virêmicos, não detectou em nenhum dos casos a presença de VHC naquele líquido. Nesta pesquisa, a determinação de anti-VHC (ELISA 2) no soro de 32 pacientes que compartilharam máquinas com pacientes virêmicos detectou 19 casos soronegativos, estando esses há pelo menos um ano em tratamento naquelas máquinas. Também YOSHIDA et al. (1993), utilizando técnicas de biologia molecular, identificaram pacientes infectados por genótipos diferentes do VHC, sem antecedentes transfusionais e dialisando na mesma máquina.

Em que pese a importância desses trabalhos que minimizam a participação da máquina de diálise na transmissão de hepatite C, parece sensato que se alie às medidas rigorosas de precaução universalmente preconizadas o não uso de máquinas potencialmente contaminadas em indivíduos não infectados.

5.2 COMPORTAMENTO CLÍNICO E BIOQUÍMICO DA HEPATITE C EM PACIENTES HEMODIALISADOS

A hepatite C é hoje a principal causa de disfunção hepática em pacientes hemodialisados (DRUWÉ et al., 1994). Uma das peculiaridades da infecção crônica pelo VHC na população que não inclui hemodialisados é seu curso indolente, com escassez de manifestações clínicas, a despeito da progressão para formas mais graves de doença hepática (KORETZ et al., 1980; KORETZ et al., 1985; DI BISCEGLIE et al., 1991; M. TAKAHASHI et al., 1993; TONG et al., 1995).

Nos hemodialisados não parece ser diferente o comportamento evolutivo pelo VHC, embora haja trabalhos na literatura que constataam a presença de sintomatologia precoce, sugestiva de comprometimento do fígado, como o de CONWAY et al. (1992), que identificaram sinais periféricos de doença hepática crônica (p. ex., eritema palmar, aranhas vasculares) em 40% de hemodialisados anti-VHC positivos, hepatomegalia em 34% e esplenomegalia em 9%. Convém, entretanto, lembrar que, além das hepatites virais, outros fatores podem contribuir para o aumento do volume hepático em hemodialisados, como alterações congestivas por sobrecarga de volume e doenças cardiovasculares, desnutrição, acúmulo de metais e substâncias sintéticas (silicone), além de doenças sistêmicas como o diabetes melito e a amiloidose (PAHL et al., 1986; DRÜEKE et al., 1989; RODÉS e ARROYO, 1991). Os trabalhos de CAMELO et al. (1993) e os de KUHNS et al. (1994) são demonstrativos da ausência de evidências clínicas de doença hepática em número significativo de hemodialisados infectados pelo VHC.

No presente estudo parece confirmar-se o comportamento silencioso da hepatite C, quando foram estudados 41 hemodialisados anti-VHC positivos, os quais se mantiveram assintomáticos, sob o ponto de vista da manifestação de doença hepática, ao longo de seis meses de acompanhamento, havendo registro de apenas três casos de hepatomegalia discreta. Em nenhum dos 41 pacientes se constatarem antecedentes de hepatite aguda ictérica, confirmando o habitual curso oligossintomático ou assintomático da afecção desde sua fase aguda, fato já mencionado em estudos realizados na população geral (BERMAN et al., 1979; KORETZ et al., 1980; TONG et al., 1995), bem como em hemodialisados (ELISAF et al., 1991; C. TAKAHASHI et al., 1988; MEDIN et al., 1993; OKUDA et al., 1996). Esse caráter evolutivo da hepatite C justifica e recomenda a indicação de determinações periódicas de ALT e de anti-VHC como recursos diagnósticos em pacientes sob tratamento dialítico.

Embora seja comum a ocorrência de elevações persistentes ou flutuantes da ALT em hemodialisados anti-VHC positivos (MONDELLI et al., 1991;

ALFURAYH et al., 1992; CHAUVEAU et al., 1993; KNUDSEN et al., 1993; McINTYRE et al., 1994), 87% dos pacientes avaliados no presente estudo mantiveram níveis séricos normais da enzima ao longo dos seis meses de acompanhamento (fig. 2, p. 40). Tal índice aproxima-se muito do referido por HAYASHI et al. (1991), que encontraram função hepática normal em 84,3% de 127 pacientes anti-VHC positivos em diálise. Cabe ponderar que, pelo fato de poder-se observar na hepatite C aumento da atividade das aminotransferases intercalando longos períodos de normalidade das enzimas, o breve período de acompanhamento no presente estudo (seis meses) poderá não haver refletido, com precisão, o comportamento bioquímico da doença nos pacientes avaliados. Diferentes autores também observaram que um número expressivo de hemodialisados portadores do VHC (RNA positivo no soro) cursa com níveis persistentemente normais de ALT, revelando a falta de sensibilidade desse critério bioquímico para indicar presença de infecção pelo VHC nessa população de pacientes (LOK et al., 1992; SHEU et al., 1992; CHAN et al., 1993; POL et al., 1993; SAKAMOTO et al., 1993; KUHNS et al., 1994; MASUKO et al., 1994). Além disso, a redução da atividade das aminotransferases observada em pacientes urêmicos e em hemodiálise poderia atuar negativamente no desempenho desse teste, mascarando elevações discretas das enzimas, que ocorrem no curso da hepatite crônica C (WOLF et al., 1972; WARNOCK et al., 1974; COHEN et al., 1976).

Cabe mencionar que a presença de viremia, a despeito de níveis normais de ALT, em pacientes hemodialisados repete as observações realizadas por diversos autores na população geral de portadores do VHC, nas quais se constatou que pelo menos 40 a 65% dos indivíduos anti-VHC positivos assintomáticos com níveis persistentemente normais de aminotransferases são virêmicos (McGUINNESS et al., 1993; ROMEO et al., 1993; YUKI et al., 1994; PRIETO et al., 1995; SHAKIL et al., 1995).

5.3 ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS EM BIOPSIAS HEPÁTICAS DE PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ASSINTOMÁTICOS E SUA CORRELAÇÃO COM A ALT

Em concordância com outros trabalhos publicados que avaliam biopsias hepáticas de pacientes hemodialisados anti-VHC positivos (ALFURAYH et al., 1992, CAMELO et al., 1993; POL et al. 1993; ROSELLÓ et al. 1993, ALMEIDA et al., 1994, FERNÁNDEZ et al., 1994; SIMON et al., 1994; DUSSOL et al., 1995), graus variáveis de envolvimento hepático foram observados no presente estudo (fig. 3, p. 42).

Na análise de espécimes de biopsia de 29 hemodialisados anti-VHC positivos assintomáticos, apenas 5 (17,24%) apresentaram fígado normal. A possibilidade de que tais anticorpos representassem memória imunológica de infecção passada seria pouco provável, pois a literatura é rica em estudos que demonstram forte associação entre soropositividade ao anti-VHC por método de 2ª geração e a presença de viremia, quer na população geral (PRIETO et al., 1995; SHAKIL et al., 1995; SHINDO et al., 1995b), quer quando se avaliam especificamente hemodialisados (SHEU et al., 1992; BUKH et al., 1993, CHAN et al., 1993; POL et al., 1993; KUHNS et al., 1994; FERNÁNDEZ et al., 1994; MASUKO et al., 1994; McINTYRE et al., 1994). Esses autores demonstraram que 60 a 90% dos hemodialisados anti-VHC positivos (ELISA 2) são virêmicos, sendo, portanto, lícito supor que a grande maioria dos hemodialisados anti-VHC positivos submetidos à biopsia hepática, no presente estudo, sejam portadores de VHC.

Embora incomum, a preservação da arquitetura hepática normal na vigência de infecção pelo VHC foi relatada por BRILLANTI et al. (1993), FERNÁNDEZ et al. (1994), NAITO et al. 1994 e MARCELLIN et al. (1995), sugerindo a existência de portadores “sadios” do VHC, pelo menos em alguma fase da história natural da doença. Essas observações indicam, então, que a presença do VHC não se associa invariavelmente a injúria hepática significativa, mas provavelmente outros fatores estejam implicados na gênese das lesões, como carga viral (GORDON et al., 1994; NAITO et al., 1994; YUKI et al., 1994; SHAKIL et

al., 1995), resposta imunológica do hospedeiro (BRILLANTI et al., 1992; SHINDO et al., 1995b) e heterogeneidade viral (BRÉCHOT et al., 1994; DUSHEIKO e SIMMONDS, 1994; SILINI et al., 1995). Além disso, co-fatores podem influenciar na história natural da hepatite C, como idade em que se contrai a doença, ingestão de álcool e co-infecção com outros vírus hepatotrópicos (DUSHEIKO e SIMMONDS, 1994).

Outra hipótese para justificar casos de indivíduos infectados pelo VHC que não apresentam evidência histológica de lesão hepática foi levantada por FARCI et al. (1991), que sugeriram a existência de sítios extra-hepáticos de replicação viral.

Nos 24 espécimes de biopsia hepática em que se diagnosticou alguma anormalidade estrutural, 8 apresentaram alterações mínimas, segundo os critérios adotados para avaliação histológica (ver Casuística e Métodos). Os achados mais frequentes nessa categoria consistiram em infiltrado linfóide discreto não formando agregados e envolvendo raros espaços-porta, e hiperplasia de células de Kupffer. Essa última alteração é observada comumente em hemodialisados já nas fases iniciais do tratamento dialítico (RAI et al., 1992), provavelmente por estímulo do sistema retículo-endotelial, exposto frequentemente a materiais estranhos. Além disso, duas outras alterações comuns a essa população foram observadas: depósito de material estranho em macrófagos, compatível com material sintético (casos 4 e 20, fig. 9, p. 46), possivelmente oriundo dos tubos de silicone da máquina dialisadora, e a presença de siderose (casos 1 e 14, fig. 10, p. 47), fruto de múltiplas hemotransfusões e hemólise (PAHL et al., 1986; DRÜEKE, 1989; RODÉS e ARROYO, 1991). A implicação das hemotransfusões como fator predisponente à siderose pode ser ilustrada pelos antecedentes transfusionais dos 2 casos observados. O caso 1, cuja siderose foi leve, recebeu 9 unidades de sangue, enquanto o 14, com depósito de pigmentos férricos de moderada monta, recebeu 15 unidades. Cabe ressaltar que, por tratar-se de pacientes oriundos, muitas vezes, de outros serviços e encaminhados sem relato minucioso do histórico transfusional, há a possibilidade de que tais cifras subestimem o número verdadeiro de hemotransfusões recebidas.

A frequência de 27,59% de alterações mínimas nos espécimes de biopsia analisados aproxima-se dos valores mencionados em outros trabalhos da literatura, envolvendo indivíduos anti-VHC positivos na população em geral (5-36%) (ESTEBAN et al., 1991; PRIETO et al., 1995; SHAKIL et al., 1995; SOOKOIAN et al., 1995). A variação na ocorrência de grau leve de envolvimento hepático também nos hemodialisados pode ser confirmada pelos índices encontrados por ROSELLÓ et al. (1993) — 17,6%, ALMEIDA et al. (1994) — 53% e DUSSOL et al. (1995) — 9,5%. Algumas considerações merecem ser feitas em relação à interpretação dos achados que sugerem grau leve de injúria hepática. Tendo em vista a natureza focal das lesões inflamatórias causadas pelo VHC (SCHEUER et al., 1992; SHINDO et al., 1995b), fato verificado no presente estudo (tabela 12, p. 49), parece lícito especular se as alterações mínimas diagnosticadas nos espécimes avaliados refletem, de modo fidedigno, a magnitude do envolvimento hepático nesses pacientes, mesmo obedecendo às recomendações de SHERLOCK (1989) e DEGOS et al. (1991) a respeito da adequação das amostras de biopsia hepática.

A fim de averiguar a superioridade do uso de dois espécimes de biopsia hepática no fornecimento de subsídios para diagnóstico histológico, quando comparados com um único espécime, FLAMM et al. (1995) estudaram 69 portadores de hepatite C crônica. Duas amostras de cada caso foram obtidas e analisadas por patologista experiente, que desconhecia a identidade de cada caso. Observou-se discordância considerável entre dois espécimes de cada caso relativamente à graduação de fenômenos de inflamação portal (45%), necrose em saca-bocado (31%) e necrose lobular (35%), bem como no escore de fibrose (34%). As discrepâncias menos significativas, da ordem de 5 a 9%, se verificaram nas lesões lobulares inflamatórias e de fibrose. Os autores concluíram que, na quase totalidade dos casos, a segunda biopsia forneceu informações adicionais que contribuíram para maior acuracidade diagnóstica.

Outro fator a ser considerado na avaliação das biopsias hepáticas de pacientes portadores do VHC é a subjetividade na interpretação de achados

histológicos observada entre diferentes observadores, o que é confirmado no trabalho recentemente publicado pelo FRENCH METAVIR COOPERATIVE STUDY GROUP (1994). Se, por um lado, o estudo confirmou elevada concordância em itens como fibrose e cirrose, o mesmo não ocorreu em alterações como necrose lobular e escores de inflamação portal, necrose lobular e necrose periportal no índice de KNOVELL (1981).

A análise do caso 16 desta pesquisa, evidenciando no estudo anatomopatológico alterações mínimas que após dois anos evoluíram para hepatite crônica persistente, autoriza que se recomende a inclusão de exame histopatológico, no seguimento de pacientes com injúria hepática leve, portadores do vírus da hepatite C.

Apesar da ausência de manifestações clínicas e bioquímicas de doença hepática na quase totalidade dos pacientes hemodialisados anti-VHC positivos submetidos à biopsia, 15 casos (51,72%) receberam diagnóstico histológico de hepatite crônica. Inúmeros trabalhos relatam prevalência de 50 a 95% de hepatite crônica em indivíduos anti-VHC positivos, ainda que muitos assintomáticos e com níveis persistentemente normais de ALT (ESTEBAN et al., 1991; ALBERTI et al., 1992; NAITO et al., 1994; YUKI et al., 1994; HEALEY et al., 1995); MARCELLIN et al., 1995; PRIETO et al., 1995; SHAKIL et al., 1995; SOOKOIAN et al., 1995).

O índice de 51,72% de casos de hepatite crônica está em concordância com os referidos por outros autores, em estudos envolvendo exclusivamente hemodialisados, conforme demonstra a tabela 16.

Embora no presente estudo nenhum caso de cirrose hepática tenha sido diagnosticado, essa complicação já foi identificada por outros autores que avaliavam pacientes hemodialisados anti-VHC positivos (CARAMELO et al., 1993; POL et al., 1993; ROSELLÓ et al., 1993; ALMEIDA et al., 1994; FERNÁNDEZ et al., 1994; DUSSOL et al., 1995).

TABELA 16 - FREQUÊNCIA DE HEPATITE CRÔNICA EM BIÓPSIAS DE PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS.

AUTORES	Nº DE PACIENTES	CASOS DE HEPATITE CRÔNICA	
		Nº	%
ALFURAYH et al. (1992)	13	13	100,00
CARAMELO et al. (1993)	33	16	48,48
POL et al. (1993)	17	16	94,11
ROSELLÓ et al. (1993)	17	5	29,41
ALMEIDA et al. (1994)	19	8	42,10
FERNÁNDEZ et al., 1994	15	10	66,66
DUSSOL et al. (1995)	21	16	76,19

Os dados advindos da análise histológica realizada no presente estudo, aliados às informações existentes na literatura, sustentam que a infecção pelo VHC é causa importante de injúria hepática crônica em hemodialisados, e sua magnitude é subestimada quando se adotam apenas parâmetros clínicos e bioquímicos.

Não menos importante que a constatação de evidência histológica de hepatite crônica em indivíduos anti-VHC positivos é a graduação do processo necroinflamatório e o estadiamento da doença. Na graduação da atividade da doença, nos 15 casos de hepatite crônica empregou-se a análise semiquantitativa e os três primeiros componentes do índice de KNOVELL (1981), segundo recomendações de DESMET et al. (1994). A atividade necroinflamatória foi, então, graduada em mínima, leve, moderada e severa, de acordo com o escore obtido (ver Casuística e Métodos). Nessa análise verificou-se atividade necroinflamatória mínima em 13 (86,6%) dos 15 casos de hepatite crônica (inclusive em 2 dos 3 casos de hepatite crônica ativa), representada principalmente por infiltrado inflamatório portal (tabela 10, p. 45, e fig. 6, p. 44). A escassez de áreas de necrose hepatocelular pode justificar, em parte, o padrão normal da ALT registrado em 14 dos 15 hemodialisados anti-VHC positivos com hepatite crônica à biópsia.

Os motivos pelos quais os hemodialisados anti-VHC positivos biopsiados apresentaram atividade inflamatória mínima ou leve suscitam algumas especulações. Outros fatores podem ser questionados, além da subjetividade na graduação dos

fenômenos necroinflamatórios avaliados pelo índice de Knodell (FRENCH METAVIR COOPERATIVE STUDY GROUP, 1994) e da possibilidade de que um único espécime de biopsia não reflita fielmente a magnitude da injúria hepática (FLAMM et al., 1995):

1. É possível que os hemodialisados estudados anti-VHC positivos tivessem apresentado baixos níveis de viremia. Diferentes estudos apontam a carga viral como fator implicado na intensidade da injúria hepática pelo VHC (GORDON et al., 1994; NAITO et al., 1994; YUKI et al., 1994; PRIETO et al., 1995). Os resultados obtidos por NAITO et al. (1994) avaliando biopsias hepáticas de 22 portadores de VHC (PCR positivos) com níveis persistentemente normais de ALT podem auxiliar na interpretação das observações realizadas no presente estudo. À semelhança do que aqui se constatou, o achado histopatológico mais freqüentemente identificado por NAITO et al. (1994) nos 19 casos de HCP foi a presença de infiltrado inflamatório portal, sendo mínimos ou mesmo ausentes os fenômenos inflamatórios lobulares. Os autores verificaram que os títulos de RNA do VHC nos três casos de fígado normal eram significativamente inferiores aos registrados nos 19 casos de HCP. Além disso, os autores observaram correlação positiva entre os níveis de viremia e o escore de atividade da doença e de inflamação portal, sugerindo que a intensidade da reação inflamatória portal é influenciada pelos níveis de replicação do vírus.

2. Outra hipótese —diante da verificação de atividade inflamatória discreta nos 15 hemodialisados anti-VHC positivos com hepatite crônica— seria que a imunossupressão, comum nessa população de urêmicos e hemodialisados, pudesse vir a atenuar os fenômenos necroinflamatórios. Essa especulação baseia-se no fato de diferentes estudos sugerirem a participação da resposta imunológica do hospedeiro na patogênese de lesão hepática pelo VHC (HINO et al., 1992; SCHEUER et al., 1992; BRILLANTI et al., 1993; FONG et al., 1994). Vale a pena mencionar o trabalho desenvolvido por MASUKO et al. (1994), que encontraram níveis elevados de viremia em hemodialisados infectados pelo VHC, semelhantes

aos verificados em um grupo controle constituído de pacientes com diagnóstico histológico de hepatite crônica ativa. Apesar da presença de títulos elevados de RNA viral no soro dos hemodialisados, apenas 4% apresentaram elevação de ALT, indicando, segundo os autores, que a resposta imunológica possa estar envolvida na patogênese dessa doença.

O presente estudo averiguou também a prevalência de achados histopatológicos mencionados na literatura como sugestivos de etiologia pelo VHC (agregados linfóides portais, infiltrado linfocitário sinusoidal, esteatose, displasia hepatocelular e multinucleação de hepatócitos) (DIENES et al., 1982; LEFKOWITCH e APFELBAUM, 1989; BACH et al., 1992; SCHEUER et al. 1992; LEFKOWITCH et al., 1993). Tal aspecto não tem sido habitualmente abordado nos trabalhos revisados que analisam biopsias hepáticas de hemodialisados anti-VHC positivos.

O achado histológico mais marcante foi a presença de agregados linfóides portais (fig. 11, p. 48), identificados em 48,27% dos 29 espécimes de biopsia (tabela 11, p. 47), envolvendo na maioria dos casos poucos espaços-porta (tabela 12, p. 49), o que confirma o caráter focal das lesões hepáticas determinadas pelo VHC. Esse aspecto característico de reação inflamatória portal na hepatite C, organizando-se em agregados e folículos linfóides, foi registrado em elevada frequência (49 a 78%) por autores como LEFKOWITCH e APFELBAUM (1989), BACH et al. (1992), SCHEUER et al. (1992), LEFKOWITCH et al. (1993). Embora tais lesões possam ocorrer em outras condições que determinam injúria hepática crônica (p. ex., hepatite crônica B, hepatite auto-imune, cirrose biliar primária), a frequência com que são registradas nos quadros de etiologia pelo VHC é significativamente superior (BACH et al., 1992; SCHEUER et al., 1992; LEFKOWITCH et al., 1993). BACH et al. (1992), ao avaliar biopsias hepáticas de pacientes com hepatite crônica C e com hepatite crônica auto-imune, observaram a presença de agregados e folículos linfóides em 49% e 10% dos espécimes, respectivamente. LEFKOWITCH et al. (1993), analisando biopsias de pacientes

com hepatite crônica C e comparando-as com as de pacientes com hepatite crônica B, verificaram a presença desses achados em 49,4 e 27,2%, respectivamente. De fato, a presença de agregados linfóides é considerada um parâmetro histológico útil no diagnóstico de doença hepática causada pelo VHC.

Infiltrado linfocitário sinusoidal, sob a forma de agregados ou cordões, foi identificado em 34,48% dos espécimes no presente estudo (tabela 11, p. 47, e fig. 12, p. 48). A presença de ativação das células inflamatórias sinusoidais é referida por DIENES et al. (1982), LEFKOWITCH e APFELBAUM (1989); SCHEUER et al. (1992) e LEFKOWITCH et al. (1993) em 25 a 78% dos casos de hepatite crônica pelo VHC. Embora tal fenômeno possa ocorrer em elevada frequência no quadro histológico da hepatite pelo VHC, não constitui achado específico dessa doença, visto que foi registrado em índices igualmente elevados em casos de hepatite crônica pelo VHB (LEFKOWITCH et al., 1993).

Cinco (17,24%) dos 29 espécimes de biopsia analisados apresentaram evidência histológica de lesão de pequenos ductos biliares compatível com os índices referidos na literatura, que variou de 22 a 31% (LEFKOWITCH e APFELBAUM, 1989; SCHEUER et al., 1992, e LEFKOWITCH et al., 1993). À semelhança do observado por SCHEUER et al. (1992), a lesão ductal foi discreta, representada na maioria dos casos por irregularidades nas células epiteliais (vacuolização) e infiltração do epitélio ductal por linfócitos. Segundo propõem LEFKOWITCH et al. (1993), a patogênese dessa lesão na hepatite C parece ser mediada por reação imunológica a antígenos na superfície do epitélio ductal. A lesão dos pequenos ductos biliares, juntamente com agregados linfóides portais e esteatose macrovesicular, é considerada por esses autores como marcadores histológicos úteis de injúria hepática pelo VHC.

Curioso é notar que, apesar de apontada a presença da esteatose em 53 a 85% dos casos de hepatite crônica pelo VHC (LEFKOWITCH e APFELBAUM, 1989; BACH et al., 1992; SCHEUER et al., 1992; LEFKOWITCH et al., 1993), nenhum dos 29 espécimes avaliados no presente estudo apresenta tal alteração. Isso

causa estranheza, visto que a desnutrição protéico-calórica freqüentemente presente nos hemodialisados seria, por si só, fator predisponente para instalação de esteatose.

A presença de displasia hepatocelular foi diagnosticada em 10,34% dos espécimes de biopsia hepática avaliados no presente estudo (tabela 11, p. 47). A freqüência desses achados nos casos de hepatite crônica pelo VHC é amplamente variável, como pode ser verificado pelos índices registrados por LEFKOWITCH e APFELBAUM (1989), BACH et al. (1992) e LEFKOWITCH et al. (1993), de 42,5%, 6% e 16,3%, respectivamente. Essa lesão foi também encontrada em índices semelhantes aos da hepatite crônica C em pacientes com diagnóstico histológico de hepatite crônica B, denotando falta de especificidade como indicador da lesão hepática pelo VHC (LEFKOWITCH et al., 1993).

O quinto achado histopatológico pesquisado foi a multinucleação de hepatócitos, fenômeno não identificado em nenhum dos 29 espécimes de biopsia examinados no presente estudo. Essa alteração, referida em 10 a 25% dos casos de hepatite crônica pelo VHC, carece de especificidade por ocorrer em índices semelhantes em casos de hepatite crônica B (LEFKOWITCH e APFELBAUM, 1989; LEFKOWITCH et al., 1993).

A elevada prevalência de infecção pelo VHC nos hemodialisados e as complicações advindas de sua cronicidade são inegavelmente motivo de apreensão para profissionais da área de saúde envolvidos no atendimento desses indivíduos. Essa preocupação estende-se aos centros que realizam transplantes renais, visto que muitos dos hemodialisados anti-VHC positivos são candidatos ao procedimento, que pode, pela imunossupressão, determinar aumento dos níveis de replicação viral e favorecer o agravamento de lesões hepáticas preexistentes (LAU et al., 1993; PEREIRA et al., 1995).

De fato, a doença hepática crônica figura entre as principais causas de morbidade e mortalidade tardia nos transplantados renais com enxerto funcionante por mais de cinco anos.

Os hemodialisados são habitualmente submetidos a determinações periódicas da ALT, prática que objetiva determinar precocemente novos casos de hepatite, bem como acompanhar a atividade da doença hepática em portadores crônicos do VHB e do VHC. O presente estudo, ao correlacionar achados histopatológicos em biopsias hepáticas de hemodialisados anti-VHC positivos com os respectivos níveis séricos de ALT, pretendeu verificar se o parâmetro bioquímico utilizado é adequado para avaliar a presença e extensão da injúria hepática pelo VHC. A análise estatística não evidenciou diferença significativa no comportamento da ALT ($p=0,15$, tabela 14, p. 50) e no seu nível médio ($p=0,86$, tabela 15, p. 51) entre o grupo de hemodialisados anti-VHC positivos com fígado normal ou com alterações mínimas (A) e o composto por aqueles com hepatite crônica persistente ou crônica ativa (B), confirmando o que foi observado em diversos estudos: de que a alanina aminotransferase constitui indicador pouco sensível da presença e gravidade das lesões hepáticas nos indivíduos anti-VHC positivos (ALBERTI et al., 1992; HEALEY et al., 1995; PRIETO et al., 1995; SHAKIL et al., 1995; SOOKOIAN et al., 1995). Trabalhos avaliando especificamente hemodialisados anti-VHC positivos obtiveram resultados semelhantes, ou seja, ausência de correlação entre o comportamento das aminotransferases e a gravidade das lesões hepáticas (ALFURAYH et al., 1992; CAMELO et al., 1993; POL et al., 1993).

As informações oriundas da presente pesquisa, corroboradas por estudos que envolvem avaliação de biopsias hepáticas de portadores de anti-VHC, permitem afirmar que critérios clínicos e bioquímicos podem subestimar a extensão do envolvimento hepático pelo VHC e que a análise histopatológica constitui peça fundamental para o acompanhamento desses pacientes.

6 CONCLUSÕES

Visava-se com o presente trabalho contribuir para a prevenção da infecção pelo VHC em pacientes hemodialisados portadores de insuficiência renal crônica e a ampliação de conhecimentos a respeito do assunto. Acredita-se que a extensa revisão bibliográfica, mesmo não exaustiva, e o achado de alta prevalência de infecção pelo VHC entre os hemodialisados estudados tenham permitido ao autor conduzir sua investigação dentro dos objetivos traçados e sua consecução.

Também haviam sido formuladas duas indagações: quanto ao aparecimento de lesões hepáticas mais graves em hemodialisados devido à imunossupressão que comumente acompanha a uremia e quanto ao valor das aminotransferases como prova sensível na avaliação do envolvimento hepático pelo VHC.

Em relação à primeira indagação, não seria possível valorizar a condição de imunossupressão que acompanha a uremia porque o número de lesões hepáticas graves foi pequeno no grupo estudado (3 casos, 3,29%), além do achado histológico, nesses casos, de atividade inflamatória mínima e leve. Ressalte-se que não foram produzidos testes específicos para a análise do estado de imunossupressão.

No que concerne à segunda indagação, os achados obtidos corroboram o que indica a literatura, considerando pouco sensível o teste das aminotransferases na avaliação do envolvimento hepático pelo VHC nesses pacientes, tendo-se comportado normalmente em 14 dos 15 portadores de hepatite crônica (93,3%).

O estudo histopatológico realizado em 29 hemodialisados veio contribuir para a conclusão, já conhecida na literatura, de que um número expressivo de indivíduos anti-VHC positivos assintomáticos apresentam graus variáveis de envolvimento hepático, desde alterações mínimas até hepatite crônica ativa.

Do exposto podem ser sintetizadas as seguintes conclusões:

1. Constatou-se elevada prevalência de infecção pelo VHC (64,6%) em pacientes hemodialisados na cidade de Curitiba, comparável com a relatada em outros centros.
2. A alanina aminotransferase representa teste de pequena sensibilidade para avaliação da gravidade da lesão hepática pelo VHC.
3. O encontro de lesões diagnósticas de hepatite crônica em hemodialisados sem manifestação clínica e bioquímica faz do exame histopatológico um recurso imprescindível para o seguimento de pacientes hemodialisados anti-VHC positivos.

ANEXO 1
ASPECTOS CLÍNICOS E SOROLÓGICOS EM 113 PACIENTES HEMODIALISADOS

NÚMERO	SEXO	IDADE (ANOS)	TEMPO DE HEMODIÁLISE (MESES)	Nº DE TRANSFUSÕES	ANTI-VHC (BRASIL)	ANTI-VHC (JAPÃO)	ANTI-VHC (FINAL)
1	F	32	4	1	N	N	N
2	F	25	79	40	N	+	N
3	F	66	9	3	N	N	N
4	M	26	3	2	N	N	N
5	M	13	4	3	N	N	N
6	M	50	36	1	+	+	+
7	M	16	46	9	+	+	+
8	M	37	40	15	+	+	+
9	F	47	7	0	+	+	+
10	M	30	6	3	+	+	+
11	M	54	15	9	+	+	+
12	M	49	9	1	+	+	+
13	M	42	60	3	+	+	+
14	M	56	40	14	+	+	+
15	F	49	73	21	+	+	+
16	M	46	16	0	+	+	+
17	M	52	8	2	N	N	N
18	F	25	16	6	N	N	N
19	M	20	76	7	+	+	+
20	M	25	34	4	N	N	N
21	M	14	60	17	+	+	+
22	M	41	44	9	+	+	+
23	F	62	53	33	N	N	N
24	F	65	7	1	N	N	N
25	F	16	32	19	+	+	+
26	F	41	29	9	+	+	+
27	F	40	42	31	+	+	+
28	M	32	38	13	+	N	N
29	F	24	8	7	N	N	N
30	M	48	31	3	+	+	+
31	M	46	41	5	+	+	+
32	M	28	26	10	+	+	+
33	M	37	32	15	+	+	+
34	M	47	39	0	+	+	+
35	F	64	32	2	+	+	+
36	F	49	2	1	N	N	N
37	M	43	56	5	+	+	+
38	M	56	34	0	+	+	+
39	F	54	52	18	+	+	+
40	M	65	25	2	N	N	N

ANEXO 1
ASPECTOS CLÍNICOS E SOROLÓGICOS EM 113 PACIENTES HEMODIALISADOS

(Continuação)

NÚMERO	SEXO	IDADE (ANOS)	TEMPO DE HEMODIALISE (MESES)	Nº DE TRANSFUSÕES	ANTI-VHC (BRASIL)	ANTI-VHC (JAPÃO)	ANTI-VHC (FINAL)
41	F	49	20	0	N	N	N
42	F	70	75	14	+	+	+
43	F	48	24	16	+	+	+
44	M	60	41	7	+	+	+
45	F	41	51	6	+	+	+
46	M	50	53	12	+	+	+
47	F	36	35	12	+	N	N
48	M	58	29	1	+	+	+
49	M	40	78	12	+	+	+
50	M	68	127	8	+	+	+
51	M	76	26	8	+	+	+
52	M	54	9	2	N	N	N
53	M	54	10	2	N	N	N
54	F	58	9	5	+	+	+
55	M	36	25	0	+	+	+
56	M	62	71	5	+	+	+
57	F	28	63	6	+	+	+
58	M	36	46	24	+	+	+
59	F	26	25	6	+	+	+
60	M	30	35	0	+	+	+
61	M	37	29	1	N	N	N
62	M	31	30	12	+	+	+
63	M	56	26	7	N	N	N
64	F	24	51	10	+	+	+
65	M	28	24	0	+	+	+
66	F	41	4	0	N	N	N
67	F	67	18	2	+	+	+
68	F	44	43	29	+	+	+
69	M	58	34	0	+	+	+
70	F	41	85	21	+	+	+
71	F	57	24	10	N	N	N
72	F	38	94	45	+	+	+
73	F	27	10	8	+	+	+
74	F	43	27	8	+	+	+
75	F	44	31	3	+	+	+
76	M	38	99	6	+	+	+
77	F	39	16	2	+	+	+
78	M	46	10	0	N	N	N
79	M	49	18	6	+	+	+
80	M	28	35	4	+	+	+

ANEXO 1
ASPECTOS CLÍNICOS E SOROLÓGICOS EM 113 PACIENTES HEMODIALISADOS

(Conclusão)

NÚMERO	SEXO	IDADE (ANOS)	TEMPO DE HEMODIÁLISE (MESES)	Nº DE TRANSFUSÕES	ANTI-VHC (BRASIL)	ANTI-VHC (JAPÃO)	ANTI-VHC (FINAL)
81	M	68	4	2	N	N	N
82	F	18	56	7	+	+	+
83	M	42	138	10	+	+	+
84	M	43	9	0	N	N	N
85	M	78	27	11	N	N	N
86	M	41	10	1	N	N	N
87	M	45	15	0	N	N	N
88	F	58	59	3	+	+	+
89	M	37	31	3	+	+	+
90	M	31	48	3	+	+	+
91	F	26	4	6	N	N	N
92	F	36	10	7	N	N	N
93	M	45	11	3	+	+	+
94	M	51	25	8	+	+	+
95	F	22	71	10	+	+	+
96	F	55	20	5	+	+	+
97	F	44	24	1	N	N	N
98	M	41	11	0	N	N	N
99	M	29	12	10	N	N	N
100	M	47	36	13	+	+	+
101	M	58	37	9	+	+	+
102	M	58	39	5	N	N	N
103	F	53	10	3	+	+	+
104	M	20	1	1	N	N	N
105	M	51	1	2	N	N	N
106	M	39	36	9	N	N	N
107	F	26	19	14	+	+	+
108	F	56	2	2	+	+	+
109	M	29	35	15	+	+	+
110	M	51	8	3	N	N	N
111	M	54	22	3	N	N	N
112	M	42	120	14	N	+	N
113	M	45	37	5	+	+	+

ANEXO 2
PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS ACOMPANHADOS POR SEIS MESES:
DADOS CLÍNICOS E BIOQUÍMICOS

PACIENTE		IDADE (ANOS)	SEXO	Nº DE TRANSFUSÕES	TEMPO EM HEMODIÁLISE (MESES)	ALANINA AMINOTRANSFERASE (6 MESES) (UK/ML)						BIOPSIA HEPÁTICA
Nº	NOME					1º	2º	3º	4º	5º	6º	
1	E.M.	16	M	9	46	34	26	20	16	31	32	Sim
2	D.M.	30	M	3	6	22	29	20	22	33	20	Sim
3	M.C.O.	28	M	0	24	24	15	11	17	14	10	Sim
4	M.A.F.	18	F	7	56	23	12	18	19	32	35	Sim
5	C.A.S.	26	F	6	25	16	21	14	11	24	17	Sim
6	E.R.	49	M	1	9	40	24	11	15	16	19	Sim
7	M.M.	54	M	9	15	15	22	14	16	27	14	Sim
8	V.B.	30	M	0	35	79	124	71	88	85	57	Sim
9	V.S.	37	M	15	40	26	14	16	15	15	18	Sim
10	O.C.	56	F	2	2	21	27	18	15	13	20	Sim
11	C.A.	16	F	19	32	20	15	19	19	16	20	Sim
12	S.O.	28	M	10	35	38	44	35	34	43	43	Sim
13	A.C.S.	31	M	3	48	13	14	64	14	12	14	Sim
14	L.O.	29	M	15	35	18	31	27	19	19	28	Sim
15	L.G.	68	M	8	129	23	20	22	12	16	19	Sim
16	R.M.S.	27	F	8	10	165	167	188	152	214	175	Sim
17	N.S.	64	F	2	32	16	22	19	19	25	12	Sim
18	Z.T.	44	F	29	43	17	16	14	15	28	28	Sim
19	B.M.	51	M	8	25	21	25	16	17	12	17	Sim
20	J.M.	58	M	1	29	16	12	12	14	12	11	Sim
21	L.F.	60	M	7	41	43	36	36	31	39	33	Sim
22	E.O.	43	M	5	56	26	25	14	25	29	30	Sim
23	A.S.	31	M	12	30	21	19	35	35	20	20	Sim
24	L.S.	62	M	5	71	24	25	30	35	24	18	Sim
25	N.S.S.	54	F	18	52	13	20	35	23	27	41	Sim
26	L.V.	43	F	8	27	11	15	20	19	18	19	Sim
27	M.G.	67	F	2	18	28	27	22	18	20	22	Sim
28	R.K.	41	F	6	51	22	28	15	27	31	35	Sim
29	E.F.	48	M	3	31	18	14	27	11	18	20	Sim
30	V.P.	45	M	3	11	53	41	42	71	57	46	Sim
31	N.R.M.	48	F	16	24	17	22	14	16	18	20	Não
32	J.G.	50	M	12	53	26	19	29	30	26	44	Não
33	A.S.	58	F	5	9	91	70	51	35	47	66	Não
34	O.H.	28	M	10	26	32	29	29	18	34	15	Não
35	S.S.	37	M	3	31	20	15	14	38	21	22	Não
36	N.P.L.	39	F	2	16	17	18	12	16	16	14	Não
37	A.P.	49	M	6	18	16	32	13	18	20	29	Não
38	S.S.	40	M	12	78	26	15	39	27	43	35	Não
39	H.S.	58	M	0	34	15	12	17	18	12	16	Não
40	L.D.	36	M	0	25	17	26	17	48	31	27	Não
41	T.C.	47	F	0	7	51	70	40	23	25	50	Não

ANEXO 3
ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS EM BIÓPSIAS HEPÁTICAS DE PACIENTES HEMODIALISADOS ANTI-VHC POSITIVOS

CASO	LÂMINA	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	IDADE (ANOS)	SEXO	TOTAL DE ESPAÇOS PORTA	AGREGADOS LINFÓIDES ESPAÇOS PORTA	ESPAÇOS-PORTA COM AGREGADOS LINFÓIDES	LESÃO DUCTAL	INFILTRADO LINFÓIDE SINUSOIDAL	ESTEATOSE	DISPLASIA	MULTI-NUCLEAÇÃO	PIGMENTOS	MATERIAL ESTRANHO	FIBROSE
1	93-7747	Siderose	16	M	7	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
2	93-7749	H.C.P.	30	M	9	+	2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	93-7915	H.C.P.	28	M	4	+	3	+	0	0	+	0	0	0	1
4	93-7965	Alterações mínimas	18	F	4	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
5	93-7967	Normal	26	F	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	93-8066	Alterações mínimas	49	M	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	93-8022	EXCLUÍDO													
8	93-8083	H.C.P.	30	M	11	+	3	0	0	0	0	0	0	0	0
9	93-8075	Normal	37	M	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	93-8129	H.C.P.	56	F	12	+	1	+	+	0	+	0	0	0	0
11	93-8131	H.C.P.	16	F	10	+	4	0	+	0	0	0	0	0	0
12	93-8290	Alterações mínimas	28	M	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	93-8298	H.C.P.	31	M	12	+	4	0	0	0	0	0	0	0	0
14	93-8363	H.C.A. + siderose	29	M	22	+	5	0	+	0	0	0	+	0	1
15	93-8368	Normal	68	M	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	93-8460	Alterações mínimas	27	F	14	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
17	93-8492	Normal	64	F	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	93-8494	H.C.A.	44	F	12	+	3	0	+	0	0	0	0	0	1
19	93-8555	Alterações mínimas	51	M	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	93-8553	H.C.P.	58	M	11	+	1	+	+	0	+	0	0	+	0
21	93-8659	H.C.A.	60	M	19	0	0	0	+	0	0	0	0	0	2
22	93-8673	Alterações mínimas	43	M	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	93-8696	Alterações mínimas	31	M	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	93-8693	H.C.P.	62	M	16	+	3	0	+	0	0	0	0	0	0
25	93-8749	H.C.P.	54	F	4	+	1	+	0	0	0	0	0	0	0
26	93-8753	H.C.P.	43	F	7	+	1	+	+	0	0	0	0	0	0
27	93-8755	H.C.P.	67	F	7	+	1	0	0	0	0	0	0	0	0
28	93-8751	H.C.P.	41	F	20	+	2	0	0	0	0	0	0	0	0
29	93-8844	Alterações mínimas	48	M	13	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
30	94-0232	Normal	45	M	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACH, R.D.; STEVENS, C.E.; HOLLINGER, F.B. et al. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis: an analysis with first- and second-generation assays. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 325, n. 19, p. 1325-1329, 1991.
- AIRES, R.S.; FREITAS, M.C.S.; ROSA, H. Prevalência de marcadores virais em doadores de sangue do HC-UFG (Goiânia, 1994) e sua correlação com níveis de ALT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GASTROENTEROLOGIA (33.: 1994.: Porto Alegre). *Anais...*, p. 50.
- AKAHANE, Y.; KOJIMA, M.; SUGAI, Y. et al. Hepatitis C virus infection in spouses of patients with type C chronic liver disease. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 120, n. 9, p. 748-752, 1994.
- ALBERTI, A.; CHEMELLO, L.; CAVALLETTO, D. et al. Antibody to hepatitis C virus and liver disease in volunteer blood donors. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 114, n. 12, p. 1010-1012, 1991.
- ALBERTI, A.; MORSICA, G.; CHEMELLO, L. et al. Hepatitis C viraemia and liver disease in symptom-free individuals with anti-HCV. *Lancet*, London, v. 340, n. 8821, p.697-698, 1992.
- ALBERÚ, J.; LISKER-MELMAN, M.; GONZÁLEZ, M. et al. Differences in prevalence of anti-HCV antibodies between chronic renal failure patients substituted with hemodialysis or chronic ambulatory peritoneal dialysis. *Hepatology*, Baltimore, v. 19, n. 4, p. 381, 1994. Abstract.
- ALFURAYH, O.; SOBH, M.; BUALI, A. R. et al. Hepatitis C virus infection in chronic haemodialysis patients: a clinicopathologic study. *Nephrol. Dial. Transplant.*, Oxford, v. 7, n. 4., p. 327-332, 1992.
- ALLANDER, T.; MEDIN, C.; JACOBSON, S.H. et al. Hepatitis C transmission in a hemodialysis unit : molecular evidence for spread of virus among patients not sharing equipment. *J. Med. Virol.*, New York, v. 43, n. 4, p. 415-419, 1994.
- ALMEIDA, P.R.L.; MATTOS, A.; BOTH, C. et al. Hepatite C em pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GASTROENTEROLOGIA (33. : 1994 : Porto Alegre). *Anais...*, p. 96.
- AL NASSER, M.N.; AL MUGEIREN, M.A.; ASSUHAIMI, S.A. et al. Seropositivity to hepatitis C virus in Saudi haemodialysis patients. *Vox Sang.*, Basel, v. 62, n. 2, p. 94-97, 1992.

- ALTER, H.J. Clinical, virological and epidemiological basis for the treatment of chronic non-A, non-B hepatitis. *J. Hepatol.*, Amsterdam, v. 11, Suppl. 1, S19-S25, 1990.
- ALTER, H.J. Descartes before the horse: I clone, therefore I am: the hepatitis C virus in current perspective. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 115, n. 8, p. 644-649, 1991.
- ALTER, H.J. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. *Hepatology*, Baltimore, v. 15, n. 2, p. 350-353, 1992. Editorial.
- ALTER, H.J. The cloning and clinical implications of HGV and HGBV-C. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 334, n. 23, p. 1536-1537, 1996. Editorial.
- ALTER, H.J. Transfusion transmitted hepatitis C and non-A, non-B, non-C. *Vox Sang.*, Basel, v. 67, Suppl. 3, p. 19-24, 1994.
- ALTER, H.J.; PURCELL, R.H.; HOLLAND, P.V. et al. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet*, London, v. 1, n. 8062, p. 459-463, 1978.
- ALTER, H.J.; PURCELL, R.H.; SHIH, J.W. et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 321, n. 22, p. 1494-1500, 1989.
- ALTER, M.J. Transmission of hepatitis C virus: route, dose, and titer. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 330, n. 11, p. 784-786, 1994.
- ALTER, M.J.; MARGOLIS, H.S.; KRAWCZYNSKI, K. et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 327, n. 27, p. 1899-1905, 1992.
- BACH, N.; THUNG, S.N.; SCHAFFNER, F. The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative study. *Hepatology*, Baltimore, v. 15, n. 4, p. 572-577, 1992.
- BERENGUER, M.; TERRAULT, N.A.; PIATAK, M. et al. Hepatitis G virus (HGV) in hepatitis C virus (HCV) infection following liver transplantation (OLTx). *Hepatology*, Baltimore, v. 23, n. 1, p. I-18, 1996. Abstract.
- BERMAN, M.; ALTER, H.J.; ISHAK, K.G. et al. The chronic sequelae of non-A, non-B hepatitis. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 91, n. 1, p. 1-6, 1979.
- BESSO, L.; ROVERE, A.; PEANO, G. et al. Prevalence of HCV antibodies in a uraemic population undergoing maintenance dialysis therapy and in the staff members of the dialysis unit. *Nephron*, Basel, v. 61, n.3, p. 304-306, 1992.

- BIANCHI, L.; DE GROOTE, J.; DESMET, V.J. et al. Acute and chronic hepatitis revisited: review by an international group. **Lancet**, London, v. 2, n. 8044, p. 914-919, 1977.
- BLAJCHMAN, M.A.; BULL, S.B.; FEINMAN, S.V. et al. Post-transfusion hepatitis: impact of non-A, non-B hepatitis surrogate tests. **Lancet**, London, v. 345, n. 345, p. 21-25, 1995.
- BLUMBERG, A.; ZEHNDER, C.; BURCKHARDT, J.J. Prevention of hepatitis C infection in haemodialysis units : a prospective study. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 10, n. 2, p. 230-233, 1995.
- BLUMBERG, B.S.; ALTER, H.J.; VISNICH, S. A "new" antigen in leukemia sera. **JAMA**, Chicago, v. 191, n. 7, p. 541-546, 1965.
- BRADLEY, D.W.; MAYNARD, J.E.; POTTER, H. et al. Posttransfusion non-A, non-B hepatitis: physicochemical properties of two distinct agents. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 148, n. 2, p. 254-265, 1983.
- BRADLEY, D.W.; McCAUSTLAND, K.A.; COOK, E.H. et al. Posttransfusion non-A, non-B hepatitis in chimpanzees. **Gastroenterology**, New York, v. 88, n.3, p. 773-779, 1985.
- BRANDÃO, A.B.M.; TORRES, R.; OLIVEIRA, B.R. et al. Prevalência do anti-VHC (ELISA II) em doadores de sangue e sua correlação com os níveis de ALT e com o anti-HBc: a experiência do Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS. **GED**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 147, 1995. Resumo.
- BRÉCHOT, C. Hepatitis C virus genetic variability: clinical implications. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 89, n. 8, (Suppl.) S41-S47, 1994.
- BRETTLER, D.B.; ALTER, J.H.; DIENSTAG, A.D. et al. Prevalence of hepatitis C virus antibody in a cohort of hemophilia patients. **Blood**, Duluth, v. 76, n. 1, p. 254-256, 1990.
- BRILLANTI, S.; FOLI, M.; GAIANI, S. et al. Persistent hepatitis C viraemia without liver disease. **Lancet**, London, v. 341, n. 8843, p. 464-465, 1993.
- BRILLANTI, S.; MASCI, C.; RICCI, P. et al. Significance of IgM antibody to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 15, n. 6, p. 998-1001, 1992.
- BROWN, J.; DOURAKIS, S.; KARAYIANNIS, P. et al. Seroprevalence of hepatitis C virus nucleocapsid antibodies in patients with cryptogenic chronic liver disease. **Hepatology**, Baltimore, v. 15, n. 2, p. 175-179, 1992.

- BRUIX, J.; BARRERA, J.M.; CALVET, X. et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis. *Lancet*, London, v. 2, n. 8670, p. 1004-1006, 1989.
- BUKH, J.; WANTZIN, P.; KROGSGAARD, K. et al. High prevalence of hepatitis C virus (HCV) RNA in dialysis patients: failure of commercially available antibody tests to identify a significant number of patients with HCV infection. *J. Infect. Dis.*, Chicago, v. 168, n. 6, p. 1343-1348, 1993.
- BUSCARINI, E.; TANZI, E.; ZANETTI, A.R. et al. High prevalence of antibodies to hepatitis C virus among family members of patients with anti-HCV-positive chronic liver disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v. 28, n. 4, p. 343-346, 1993.
- CARAMELO, C.; NAVAS, S.; ALBEROLA, M.L. et al. Evidence against transmission of hepatitis C virus through hemodialysis ultrafiltrate and peritoneal fluid. *Nephron*, Basel, v. 66, n. 4, p. 470-473, 1994.
- CARAMELO, C.; ORTIZ, A.; AGUILERA, B. et al. Liver disease patterns in hemodialysis patients with antibodies to hepatitis C virus. *Am. J. Kidney Dis.*, Philadelphia, v. 22, n. 6, p. 822-828, 1993.
- CARRERA, F.; SILVA, J.G.; PIRES, C. et al. Prevalence of non-A, non-B hepatitis and anti-HCV antibodies in a Portuguese dialysis population. *Nephrol. Dial. Transplant.*, Oxford, v. 7, n. 9, p. 913-916, 1992.
- CASTILHO, M.C.; BOTELHO, R.; BRASIL, L.M. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) no estado do Amazonas (Amazônia Ocidental), Brasil. *GED*, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 148, 1995. Resumo.
- CDC. Public health service inter-agency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues and semen for evidence of hepatitis B and hepatitis C. *MMWR*, Atlanta, v. 40, n. RR-4, p. 1-17, 1991.
- CENDOROGLO NETO, M.; DRAIBE, S.A.; SILVA, A.E.B. et al. Incidence of and risk factors for hepatitis B virus and hepatitis C virus infection among haemodialysis and CAPD patients: evidence for environmental transmission. *Nephrol. Dial. Transplant.*, Oxford, v. 10, n. 2, p. 240-246, 1995.
- CHAN, T.M.; LOK, A.S.F.; CHENG, I.K.P. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: a longitudinal study comparing the results of RNA and antibody assays. *Hepatology*, Baltimore, v. 17, n. 1, p. 5-8, 1993.
- CHAUVEAU, P.; COUROUCÉ, A.M.; LEMAREC, N. et al. Antibodies to hepatitis C virus by second generation test in hemodialyzed patients. *Kidney Int.*, New York, Suppl 41, p. S149-S152, 1993.

- CHEMELLO, L.; CAVALLETTO, D., NOVENTA, F. et al. Predictors of sustained response, relapse and no response in patients with chronic hepatitis C treated with interferon-alpha. **Journal of Viral Hepatitis**, Oxford, v. 2, n. 2, p. 91-96, 1995.
- CHEMELLO, L.; CAVALLETTO, D.; PONTISSO, P. et al. Patterns of antibodies to hepatitis C virus in patients with chronic non-A, non-B hepatitis and their relationship to viral replication and liver disease. **Hepatology**, Baltimore, v. 17, n. 2, p. 179-182, 1993.
- CHOO, Q-L., KUO, G.; WEINER, A.J. et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genoma. **Science**, Washington, v. 244, n. 4902, p. 359-362, 1989.
- CHOO, Q-L.; WEINER, A.J.; OVERBY, L.R. et al. Hepatitis C virus: the major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis. **Br. Med. Bull.**, London, v. 46, n. 2, p. 423-441, 1990.
- CHUNG, H.T.; LEE, J.S.K.; LOK, A.S.F. et al. Prevention of posttransfusion hepatitis B and C by screening for antibody to hepatitis C virus and antibody to HBcAg. **Hepatology**, Baltimore, v. 18, n. 5, p. 1045-1049, 1993.
- COHEN, G.A.; GOFFINET, J.A.; DONABEDIAN, R.K. et al. Observations on decreased serum glutamic oxalacetic transaminase (SGOT) activity in azotemic patients. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 84, n. 3, p. 275-280, 1976.
- COLOMBO, M.; KUO, G.; CHOO, Q-L. et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. **Lancet**, London, v.2, n. 1006-1008, 1989.
- COLOMBO, P.; FILIBERTI, O.; PORCU, M. et al. Prevalence of hepatitis C infection in a hemodialysis unit. **Nephron**, Basel, v. 61, n. 3, p. 326-327, 1992.
- CONTRERAS, M.; BARBARA, J.A.I.; ANDERSON, C.C. et al. Low incidence of non-A, non-B post-transfusion hepatitis in London confirmed by hepatitis C virus serology. **Lancet**, London, v. 337, n. 8744, p. 753-757, 1991.
- CONWAY, M.; CATTERALL, A.P.; BROWN, E.A. et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C in dialysis patients and transplant recipients with possible routes of transmission. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 7, n. 12, p. 1226-1229, 1992.
- CORNU, C.; BRUSSELMANS, C., GEUBEL, A. et al. Anti-HCV seroconversion in multitransfused and immunocompromised patients: a long-term longitudinal study. **Vox Sang.**, Basel, v. 67, n. 3, p. 286-290, 1994.
- COSTA NETO, P.L.O. **Estatística**. São Paulo : Ed. Edgard Blücher, 1977.

- COUROUCÉ, A.M.; BOUCHARDEAU, F.; CHAUVEAU, P. et al. Hepatitis C virus (HCV) infection in haemodialysed patients: HCV-RNA and anti-HCV antibodies (third-generation assays). **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 10, n. 2, p. 234-239, 1995.
- DEGOS, F.; DEGOTT, C.; BENHAMOU, J.-P. Liver biopsy. In: McINTYRE, N.; BENHAMOU, J.-P.; BIRCHER, J.; RIZZETTO, M.; RODES, J. **Oxford textbook of clinical hepatology**. Oxford : Oxford University Press, 1991. v. 1, p. 320-324.
- DE MITRI, M.S.; POUSSIN, K.; BACCARINI, P. et al. HCV-associated liver cancer without cirrhosis. **Lancet**, London, v. 345, n. 8917, p. 413-415, 1995.
- DENTICO, P.; VOLPE, A.; BUONGIORNO, R. et al. Detection of antibodies to HCV in haemodialysis patients using two second generation ELISA tests. **Ital. J. Gastroenterol.**, Roma, v. 25, n. 1, p. 19-22, 1993.
- DESMET, V.J.; GERBER, M.; HOOFNALGE, J.H. et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. **Hepatology**, Baltimore, v. 19, n. 6, p.1513-1520, 1994.
- DI BISCEGLIE, A.M.; GOODMAN, Z.D.; ISHAK, K.G. et al. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic posttransfusion hepatitis. **Hepatology**, Baltimore, v. 14, n. 6, p. 969-974, 1991.
- DI BISCEGLIE, A.M.; SIMPSON, L.H.; LOTZE, M.T. et al. Development of hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease due to hepatitis C viral infection. **J. Clin. Gastroenterol.**, New York, v. 19, n. 3, p. 222-226, 1994.
- DIENES, H.P.; POPPER, H.; ARNOLD, W. et al. Histologic observations in human hepatitis non-A, non-B. **Hepatology**, Baltimore, v. 2, n. 5, p. 562-571, 1982.
- DONAHUE, J.G.; MUÑOZ, A.; NESS, P.M. et al. The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 327, n. 6, p. 369-373, 1992.
- DRÜEKE, T.B. Long-term hemodialysis and liver disease. **Contrib. Nephrol.**, Basel, v. 71, p. 57-63, 1989.
- DRUWÉ, P.M.; MICHIELSEN, P.P.; RAMON, A.M. et al. Hepatitis C and nephrology: invited editorial review. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 9, n. 3, p. 230-237, 1994.

- DUSHEIKO, G.; SCHMILOVITZ-WEISS, H.; BROWN, D. et al. Hepatitis C virus genotypes: an investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology*, Baltimore, v. 19, n. 1, p. 13-18, 1994.
- DUSHEIKO, G.; SIMMONDS, P. Sequence variability of hepatitis C virus and its clinical relevance. *Journal of Viral Hepatitis*, Oxford, v. 1, n. 1, p. 3-15, 1994.
- DUSSOL, B.; BERTHEZÈNE, P.; BRUNET, P. et al. Hepatitis C virus infection among chronic dialysis patients in the South of France: a collaborative study. *Am. J. Kidney Dis.*, Philadelphia, v. 25, n. 3, p. 399-404, 1995.
- EBELING, F.; NAUKKARINEN, R.; LEIKOLA, J. et al. Recombinant immunoblot assay for hepatitis C virus antibody as predictor of infectivity. [letter]. *Lancet*, London, v. 335, n. 8695, p. 982-983, 1990.
- ELISAF, M.; TSIANOS, E.; MAVRIDIS, A. et al. Antibodies against hepatitis C virus (anti-HCV) in haemodialysis patients: association with hepatitis B serological markers. *Nephrol. Dial. Transplant.*, Oxford, v. 6, n. 7, p. 476-479, 1991.
- ESTEBAN, J.I.; ESTEBAN, R.; VILADOMIU, L. et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet*, London, v. 2, n. 8658, p. 294-297, 1989.
- ESTEBAN, J.I.; GONZÁLEZ, A.; HERNANDEZ, J.M. et al. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion-associated hepatitis. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 323, n. 16, p. 1107-1112, 1990.
- ESTEBAN, J.I.; LÓPEZ-TALAVERA, J.C.; GENESCA, J. et al. High rate of infectivity and liver disease in blood donors with antibodies to hepatitis C virus. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 115, n. 6, p. 443-449, 1991.
- EVERHART, J.E.; DI BISCEGLIE, A.M.; MURRAY, L.M. et al. Risk for non-A, non-B (type C) hepatitis through sexual or household contact with chronic carriers. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 112, n. 7, p. 544-545, 1990.
- EYSTER, M.E.; ALTER, H.J.; ALEDORT, L.M. et al. Heterosexual co-transmission of hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV). *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 115, n. 10, p. 764-768, 1991.
- FABRIZI, F.; LUNGHI, G.; GUARNORI, I. et al. Incidence of seroconversion for hepatitis C virus in chronic haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol. Dial. Transplant.*, Oxford, v. 9, n. 11, p. 1611-1615, 1994.
- FARCI, P.; ALTER, H.J.; GOVINDARAJAN, S. et al. Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. *Science*, Washington, v. 258, n. 5079, p. 135-140, 1992.

- FARCI, P.; ALTER, H.J.; WONG, D et al. A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 325, n. 2, p. 98-104, 1991.
- FAVERO, M.S. Dialysis-associated diseases and their control. In: BENNETT, J.V.; BRACHMAN, P.S. *Hospital Infection*. 2nd ed. Boston: Little Brown, 1986. p. 267-284.
- FEINSTONE, S.M.; KAPIKIAN, A.Z.; PURCELL, R.H. et al. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 292, n. 15, p. 767-770, 1975.
- FERNÁNDEZ, J.L.; GIULIONI, P.; DEL PINO, N. et al. The meaning of anti-HCV status in hemodialyzed patients. *Hepatology*, Baltimore, v. 19, n. 4, p. 611, 1994. Abstract.
- FILLIBEN, J.J. The probability plot correlation test for normality. *Technometrics*, v. 17, n. 1, p. 111-117, 1995.
- FLAMM, S.L.; UPTON, M.; PARKER, R. et al. Histopathologic heterogeneity in chronic hepatitis C virus infection : are two liver biopsy specimens better than one? *Hepatology*, Baltimore, v. 22, n. 4, pt. 2, p. 270A, 1995. Abstract.
- FONG, T-L.; VALINLUCK, B.; GOVINDARAJAN, S. et al. Short-term prednisone therapy affect aminotransferase activity and hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, Philadelphia, v. 107, n.1, p. 196-199, 1994.
- FRENCH METAVIR COOPERATIVE STUDY GROUP. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, Baltimore, v. 20, n. 1, pt. 1, p. 15-20, 1994.
- FRY, K.E.; LINNEN, J.; ZHANG-KECK, Z.-Y. et al. Sequence analysis of a new RNA virus (hepatitis G virus HGV) reveals a unique virus in the Flaviviridae family. *Hepatology*, Baltimore, v. 22, n. 4, pt. 2, p. 181A, 1995. Abstract.
- FUJIYAMA, S.; KAWANO, S.; SATO, S. et al. Changes in prevalence of anti-HCV antibodies associated with preventive measures among hemodialysis patients and dialysis staff. *Hepato-Gastroenterol.*, New York, v. 42, n.2, p. 162-165, 1995.
- GALBRAITH, R.M.; DIENSTAG, J.L.; PURCELL, R.H. et al. Non-A, non-B hepatitis associated with chronic liver disease in a haemodialysis unit. *Lancet*, London, v. 1, p. 951-953, 1979.
- GARCÍA-SAMANIEGO, J.; SORIANO, V.; SILVA, E. et al. Significance of HCV RIBA-2 indeterminate results in high-risk individuals: assessment by a new

- third-generation RIBA assay and PCR [letter]. *Vox Sang.*, Basel, v. 66, n.2, p. 148-149, 1994.
- GERBERDING, J.L. Management of occupational exposures to blood-borne viruses. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 332, n. 7, p. 444-451, 1995.
- GITNICK, G.; WEISS, S.; OVERBY, L.R. et al. Non-A, non-B hepatitis: a prospective study of a hemodialysis outbreak with evaluation of a serologic marker in patients and staff. *Hepatology*, Baltimore, v. 3, n. 5, p. 625-630, 1983.
- GOLDBLUM, S.E.; REED, W.P. Host defense and immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 93, n. 4, p. 597-613, 1980.
- GORDON, S.C., KODALLI, V.P.; SILVERMAN, A.L. et al. Levels of hepatitis C virus RNA and liver histology in chronic type C hepatitis. *Am. J. Gastroenterol.*, New York, v. 89, n. 9, p. 1458-1461, 1994.
- GORDON, S.C.; PATEL, A.H.; KULESKA, G.W. et al. Lack of evidence for the heterosexual transmission of hepatitis C. *Am. J. Gastroenterol.*, New York, v. 87, n. 12, p. 1849-1851, 1992.
- GUIDO, M.; THUNG, S.N. The value of identifying hepatitis C virus in liver pathology specimes. *Hepatology*, Baltimore, v. 23, n. 2, p. 376-378, 1996.
- HAGIWARA, H.; HAYASHI, N.; FUSAMOTO, H. et al. Quantitative analysis of hepatitis C virus RNA: relationship between the replicative level and the various stages of the carrier state or the response to interferon therapy. *Gastroenterol. Jpn.*, Tokio, v. 28 (Suppl 5), p. 48-51, 1993.
- HAYASHI, J.; NAKASHIMA, K.; KAJIYAMA, W, et al. Prevalence of antibody to hepatitis C virus in hemodialysis patients. *Am. J. Epidemiol.*, Baltimore, v. 134, n. 6, p. 651-657, 1991.
- HEALEY, C.J.; CHAPMAN, R.W.G.; FLEMING, K.A. Liver histology in hepatitis C infection: a comparison between patients with persistently normal or abnormal transaminases. *Gut*, London, v. 37, n. 2, p. 274-278, 1995.
- HINO, K.; OKUDA, M.; KONISHI, T. et al. Analysis of lymphoid follicles in liver of patients with chronic hepatitis C. *Liver*, Copenhagen, v. 12, n. 6, p. 387-391, 1992.
- HINO, K.; SAINOKAMI, S.; SHIMODA, K. et al. Clinical course of acute hepatitis C and changes in HCV markers. *Dig. Dis. Sci.*, New York, v. 39, n. 1, p. 19-27, 1994.

- HOLZBERGER, G.; SEIDL, S.; PESCHKE, B. et al. The prevalence of anti-HCV in hemodialysis patients and blood donors in Germany. **Transplant. Proc.**, Norwalk, v. 23, n. 5, p. 2658-2659, 1991.
- HONDA, M., KANEKO, S.; SAKAI, A. et al. Degree of diversity of hepatitis C virus quasispecies and progression of liver disease. **Hepatology**, Baltimore, v. 20, n. 5, p. 1144-1151, 1994.
- HONDA, M.; KANEKO, S.; UNOURA, M. et al. Risk of hepatitis C virus infections through household contact with chronic carriers: analysis of nucleotide sequences. **Hepatology**, Baltimore, v. 17, n. 6, p. 971-976, 1993.
- HOUGHTON, M.; WEINER, A.; HAN, J. et al. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disease. **Hepatology**, Baltimore, v. 14, n. 2, p. 381-388, 1991.
- HSU, H.H.; GONZALEZ, M.; FOUNG, S.K.H. et al. Antibodies to hepatitis C virus in low-risk blood donors: implications for counseling positive donors. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 101, n. 6, p. 1724-1727, 1991.
- JADOUL, M.; CORNU, C.; VAN YPERSELE DE STRIHOU, C.; THE UCL COLLABORATIVE GROUP. Incidence and risk factors for hepatitis C seroconversion in hemodialysis: a prospective study. **Kidney Int.**, New York, v. 44, n. 6, p. 1322-1326, 1993.
- JANOT, C.; COUROUCÉ, A.M.; MANIEZ, M. Antibodies to hepatitis C virus in French blood donors. **Lancet**, London, v. 2a, n. 8666, p. 796-797, 1989.
- JAPANESE RED CROSS NON-A, NON-B HEPATITIS RESEARCH GROUP. Effect of screening for hepatitis C virus antibody and hepatitis B virus core antibody on incidence of post-transfusion hepatitis. **Lancet**, London, v. 338, n. 8774, p. 1040-1041, 1991.
- JEFFERS, L.X.; PEREZ, G.O.; DE MEDINA, M.D. et al. Hepatitis C infection in two urban hemodialysis units. **Kidney Int.**, New York, v. 38, n. 2, p. 320-322, 1990.
- KANAZAWA, Y.; HAYASHI, N.; MITA, E. et al. Influence of viral quasispecies on effectiveness of interferon therapy in chronic hepatitis C patients. **Hepatology**, Baltimore, v. 20, n. 5, p. 1121-1130, 1994.
- KAO, J-H.; CHEN, P-J.; YANG, P-M. et al. Intrafamilial transmission of hepatitis C virus: the important role of infections between spouses. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 166, n. 4, p. 900-903, 1992.
- KARAYIANNIS, P.; MCGARVEY, M.J. The GB hepatitis viruses. **J. of Viral Hepatitis**, Oxford, v. 2, n. 5, p. 221-226, 1995.

- KAROHL, C.; MANFRO, R.C.; SENGER, M.B. et al. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica em Porto Alegre. *J. Bras. Nefrol.*, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 40-46, 1995.
- KATAYAMA, T.; MAZDA, T.; KIRUCHI, S. et al. Improved serodiagnosis of non-A, non-B hepatitis by an assay detecting antibody to hepatitis C virus core antigen. *Hepatology*, Baltimore, v. 15, n. 3, p. 391-394, 1992.
- KATKOV, W.N.; FRIEDMAN, L.S.; CODY, H. et al. Elevated serum alanine aminotransferase levels in blood donors: the contribution of hepatitis C virus. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 115, n.11, p. 882-884, 1991.
- KIYOSAWA, K.; SODEYAMA, T.; TANAKA, E. et al. Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology*, Baltimore, v. 12, n. 4, p. 671-675, 1990.
- KIYOSAWA, K.; SODEYAMA, T.; TANAKA, E. et al. Hepatitis C in hospital employees with needlestick injuries. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 115, n. 5, p.367-369, 1991.
- KHAN, I.H.; CATTO, G.R.D. Long-term complications of dialysis: infection. *Kidney Int.*, New York, v. 43, Suppl. 41, p. S143-S148, 1993.
- KNODELL, R.G.; CONRAD, M.E.; DIENSTAG, J.L. et al. Etiological spectrum of post-transfusion hepatitis. *Gastroenterology*, New York, v. 69, n. 6, p. 1278-1285, 1975.
- KNODELL, R.G.; ISHAK, K.G.; BLACK, W.C. et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*, Baltimore, v. 1, n. 5, p. 431-435, 1981.
- KNUDSEN, F.; WANTZIN, P.; RASMUSSEN, K. et al. Hepatitis C in dialysis patients: relationship to blood transfusion, dialysis and liver disease. *Kidney Int.*, New York, v. 43, n. 6, p.1353-1356, 1993.
- KOIZUMI, K.; ENOMOTO, N.; KUROSAKI, M. et al. Diversity of quasispecies in various disease stages of chronic hepatitis C virus infection and its significance in interferon treatment. *Hepatology*, Baltimore, v. 22, n. 1, p. 30-35, 1995.
- KOLHO, E.; NAUKKARINEN, R.; EBELING, F. et al. Transmission of hepatitis C virus to sexual partners of seropositive patients with bleeding disorders: a rare event. *Scand. J. Infect. Dis.*, Stockholm, v. 23, n. 3, p. 667-670, 1991.

- KORETZ, R.L.; STONE, O.; GITNICK, G.L. et al. The long-term course of non-A, non-B post-transfusion hepatitis. *Gastroenterology*, New York, v. 79, n.5, p. 893-898, 1980.
- KORETZ, R.L.; STONE, O.; MOUSA, M. et al. Non-A, non-B posttransfusion hepatitis: a decade later. *Gastroenterology*, New York, v. 88, n. 5, p. 1251-1254, 1985.
- KÜHNEL, P.; SEIDL, S.; STANGEL, W. et al. Antibody to hepatitis C virus in German blood donors [letter]. *Lancet*, London, v. 2, n. 8658, p. 324, 1989.
- KUHNS, M.; DE MEDINA, M.; McNAMARA, A. et al. Detection of hepatitis C virus RNA in hemodialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol.*, Baltimore, v. 4, n. 7, p. 1491-1497, 1994.
- KUO, G.; CHOO, Q-L.; ALTER, H.J. et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*, Washington, v. 244, n. 4902, p. 362-364, 1989.
- KURUMAYA, H.; KONO, N.; NAKANUMA, Y. et al. Hepatic granulomata in long-term hemodialysis patients with hyperalbuminemia. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, Chicago, v. 113, n. 10, p. 1132-1134, 1989.
- LAU, J.Y.N.; DAVIS, G.L.; BRUNSON, M.E. et al. Hepatitis C virus infection in kidney transplant recipients. *Hepatology*, Baltimore, v. 18, n. 5, p. 1027-1031, 1993.
- LEE, S-D., CHAN, C-Y.; WANG, Y-J. et al. Seroepidemiology of hepatitis C virus infection in Taiwan. *Hepatology*, Baltimore, v. 13, n. 5, p. 830-833, 1991.
- LEFKOWITCH, J.H.; APFELBAUM, T.F. Non-A, non-B hepatitis: characterization of liver biopsy pathology. *J. Clin. Gastroenterol.*, New York, v. 11, n. 2, p. 225-232, 1989.
- LEFKOWITCH, J.H.; SCHIFF, E.R.; DAVIS, G.L. et al. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C : a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, New York, v. 104, n. 3, p. 595-603, 1993.
- LIN, H.-H.; HUANG, C-C.; SHEEN, I-S. et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in the hemodialysis unit. *Am. J. Nephrol.*, Basel, v. 11, n. 3, p. 192-194, 1991.
- LOK, A.S.F.; CHEUNG, R.; CHAN, R. et al. Hepatitis C viremia in patients with hepatitis C virus infection. *Hepatology*, Baltimore, v. 15, n. 6, p. 1007-1012, 1992.

- LOK, A.S.F.; CHIEN, D.; CHOO, Q-L. et al. Antibody response to core, envelope and nonstructural hepatitis C virus antigens: comparison of immunocompetent and immunosuppressed patients. **Hepatology**, Baltimore, v. 18, n. 3, p. 497-502, 1993.
- MARCELLIN, P.; KILANI, A.; CYMES, K. et al. Virological and histological characteristics in anti-HCV positive subjects with normal transaminases levels. **Hepatology**, Baltimore, v. 22, n. 4, pt. 2, p. 273A, 1995. Abstract.
- MARCHESI, D.; ARICI, C.; POLETTI, E. et al. Outbreak of non-A, non-B hepatitis in centre haemodialysis patients: a retrospective analysis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 3, n. 6, p. 795-799, 1988.
- MARTIN, P.; DI BISCEGLIE, A.M.; KASSIANIDES, C. et al. Rapidly progressive non-A, non-B hepatitis in patients with human immunodeficiency virus infection. **Gastroenterology**, New York, v. 97, n. 6, p. 1559-1561, 1989.
- MARTIN, P.; FRIEDMAN, L.S. Chronic viral hepatitis and the management of chronic renal failure. **Kidney Int.**, New York, v. 47, n. 5, p. 1231-1241, 1995.
- MASIN, G.; DEJANOV, I.; POLENAKOVIC, M. et al. HCV-antibodies in patients on haemodialysis in Republic of Macedonia. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEPHROLOGY (12. : 1993 : Jerusalem). **Anais...**, p. 315.
- MASUKO, K.; MITSUI, T.; IWANO, K. et al. Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 334, n. 23, p. 1485-1490, 1996.
- MASUKO, K.; OKUDA, K.; MEGURO, T. et al. Hepatitis C virus antibodies, viral RNA and genotypes in sera from patients on maintenance haemodialysis **Journal of Viral Hepatitis**, Oxford, v. 1, p. 65-71, 1994.
- MAZZOTA, L.; LANDUCCI, G.; PFANNER, L. et al. Comparison between first and second generation tests to determine the frequency of anti-HCV antibodies in uremic patients in replacement dialytic therapy. **Nephron**, Basel, v. 61, n. 3, p. 354-355, 1992.
- McFARLANE, I.G.; SMITH, H.M.; JOHNSON, P.J. et al. Hepatitis C virus antibodies in chronic active hepatitis: pathogenic factor or false-positive results? **Lancet**, London, v. 335, n. 8692, p. 754-757, 1990.
- McGUINNESS, P.H.; BISHOP, G.A.; LIEN, A. et al. Detection of serum hepatitis C virus RNA in HCV antibody-seropositive volunteer blood donors. **Hepatology**, Baltimore, v. 18, n. 3, p. 485-490, 1993.

- McHUTCHISON, J.G.; PERSON, J.L.; GOVINDARAJAN, S. et al. Improved detection of hepatitis C virus antibodies in high-risk population. **Hepatology**, Baltimore, v. 15, n. 1, p. 19-25, 1992.
- McINTYRE, P.G.; McCRUDEN, E.A.B.; DOW, B.C. et al. Hepatitis C virus infection in renal dialysis patients in Glasgow. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 9, p. 291-295, 1994.
- MEDIN, C.; ALLANDER, T.; ROLL, M. et al. Seroconversion to hepatitis C virus in dialysis patients: a retrospective and prospective study. **Nephron**, Basel, v. 65, p. 40-45, 1993.
- MELBYE, M.; BIGGAR, R.J.; WANTZIN, P. et al. Sexual transmission of hepatitis C virus: cohort study (1981-9) among European homosexual men. **B.M.J.**, London, v. 301, n. 6745, p. 210-212, 1990.
- MITA, E.; HAYASHI, N.; HAGIWARA, H et al. Predicting interferon therapy efficacy from hepatitis C virus genotype and RNA titer. **Dig. Dis. Sci.**, New York, v.39, n.5, p. 977-982, 1994.
- MITCHEL, L.S.; JEFFERS, L.J.; REDDY, K. R. et al. Detection of hepatitis C virus antibody by first and second generation assays and polymerase chain reaction in patients with autoimmune chronic active hepatitis types I, II, and III. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 88, n. 7, p. 1027-1033, 1993.
- MITWALLI, A.; AL-MOHAYA, S.; AL WAKEEL, J. et al. Hepatitis C in chronic renal failure patients. **Am. J. Nephrol.**, Basel, v. 12, p. 288-291, 1992.
- MMWR update. Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other bloodborne pathogens in health-care settings. **JAMA**, Chicago, v. 260, n. 4, p. 462-465, 1988.
- MONDELLI, M.U.; CRISTINA, G.; PIAZZA, V. et al. High prevalence of antibodies to hepatitis C virus in hemodialysis units using a second-generation assay. **Nephron**, Basel, v. 61, n. 3, p. 350-351, 1992.
- MONDELLI, M.U.; SMEDILLE, V.; PIAZZA, V. et al. Abnormal alanine aminotransferase activity reflects exposure to hepatitis C virus in haemodialysis patients. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 6, n. 7, p. 480-483, 1991.
- MOSCONI, G.; CAMPIERI, C.; MINIERO, R. et al. Epidemiology of hepatitis C in a population of hemodialysis patients. **Nephron**, Basel, v. 61, n. 3, p. 298-299, 1992.
- MOSLEY, J.W.; STEVENS, C.E.; AACH, R.D. et al. Donor screening for antibody to hepatitis B core antigen and hepatitis B infection in transfusion recipients. **Transfusion**, Bethesda, v. 35, n. 1, p. 5-12, 1995.

- MULLER, G.Y.; ZABALETA, M.E.; ARMINIO, A. et al. Risk factors for dialysis-associated hepatitis C in Venezuela. **Kidney Int.**, New York, v. 41, p. 1055-1058, 1992.
- NAITO, M.; HAYASHI, N.; HAGIWARA, H. et al. Serum hepatitis C virus RNA quantity and histological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels. **Hepatology**, Baltimore, v. 19, n. 4, p. 871-875, 1994.
- NAITO, M.; HAYASHI, N.; MORIBE, T. et al. Hepatitis C viral quasispecies in hepatitis C virus carriers with normal liver enzymes and patients with type C chronic liver disease. **Hepatology**, Baltimore, v. 22, n. 2, p. 407-412, 1995.
- NAKATSUJI, Y.; MATSUMOTO, A.; TANAKA, E. et al. Detection of chronic hepatitis C virus infection by four diagnostic system: first-generation and second-generation enzyme-linked immunosorbent assay, second-generation recombinant immunoblot assay and nested polymerase chain reaction analysis **Hepatology**, Baltimore, v. 16, n. 2, p. 300-305, 1992.
- NOUSBAUM, J-B.; POL, S.; NALPAS, B. et al. Hepatitis C virus type 1b(II) infection in France and Italy. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 122, n. 3, p. 161-168, 1995.
- NOURI-ARIA, K.T.; SALLIE, R.; MIZOKAMI, M. et al. Intra-hepatic expression of hepatitis C virus antigen in chronic liver disease. **J. Pathol.**, Chichester, v. 175, p. 77-83, 1995.
- NOVATI, R.; THIERS, V.; MONFORTE, A. et al. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus detected by nested polymerase chain reaction. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 165, n. 4, p. 720-723, 1992.
- OHTO, H.; TERAZAWA, S.; SASAKI, N. et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 330, n. 11, p. 744-750, 1994.
- OKUDA, K.; HAYASHI, H.; KOBAYASHI, S. et al. Acute hepatitis C in chronic hemodialysis patients. **Hepatology**, Baltimore, v. 23, n. 1, p. I-66, 1996. Abstract.
- OLIVA, J.A.; MAYMO, R.M.; CARRIO, J. et al. Late seroconversion of hepatitis C virus markers in hemodialysis patients. **Kidney Int.**, New York, v. 43, Suppl. 41, p. S153-S156, 1993.
- PAHL, M.V.; VAZIRI, N.D.; DURE-SMITH, B. et al. Hepatobiliary pathology in hemodialysis patients: an autopsy study of 78 cases. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 81, n. 9, p. 783-787, 1986.

- PATÍÑO-SARCINELLI, F.; HYMAN, J.; CAMACHO, L.A.B. et al. Prevalence and risk factors for hepatitis C antibodies in volunteer blood donors in Brazil. **Transfusion**, Bethesda, v. 34, n. 2, p. 138-141, 1994.
- PEREIRA, B.J.G.; MILFORD, E.L.; KIRKMAN, R.L. et al. Prevalence of hepatitis C virus RNA in organ donors positive for hepatitis C antibody and the recipients of their organs. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 327, p. 910-915, 1992.
- PEREIRA, B.J.G.; WRIGHT, T.L.; SCHMID, C.H. et al. The impact of pretransplantation hepatitis C infection on the outcome of renal transplantation. **Transplantation**, Baltimore, v. 60, n. 8, p. 799-805, 1995.
- POL, S.; ROMEO, R.; ZINS, B. et al. Hepatitis C virus RNA in anti-HCV positive hemodialyzed patients: significance and therapeutic implications. **Kidney Int.**, New York, v. 44, n. 5, p. 1097-1100, 1993.
- PRIETO, M.; OLASO, V.; VERDÚ, C. et al. Does the healthy hepatitis C virus carrier state really exist?: an analysis using polymerase chain reaction. **Hepatology**, Baltimore, v. 22, n. 2, p. 413-417, 1995.
- PRINCE, A.M. Immunity in hepatitis C virus infection. **Vox Sang.**, Basel, Suppl. 3, p 227-228, 1994.
- PRINCE, A.M.; BROTMAN, B.; GRADY, G.F. et al. Long-Incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis B virus. **Lancet**, London, v. 2, n. 7875, p. 241-246, 1974.
- PRINCE, A.M.; BROTMAN, B.; HUIMA, T. et al. Immunity in hepatitis C infection. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 165, n. 3, p. 438-443, 1992.
- PUOTI, M.; ZONARO, A.; RAVAGGI, A. et al. Hepatitis C virus RNA and antibody response in the clinical course of acute hepatitis C virus infection. **Hepatology**, Baltimore, v. 16, n. 4, p. 877-881, 1992.
- QUIROGA, J.A.; BINSBERGEN, J.V.; WANG, C.Y. et al. Immunoglobulin M antibody to hepatitis C virus core antigen : correlation with viral replication, histological activity, and liver disease outcome. **Hepatology**, Baltimore, v. 22, n. 6, p. 1635-1640, 1995.
- QUIROGA, J.A.; CAMPILLO, M.L.; CATILLO, I. et al. IgM antibody to hepatitis C virus in acute and chronic hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 14, n. 1, p 38-43, 1991.
- RAI, U.S.; SINGH, R.G.; USHA et al. Hepatic changes during short term haemodialysis. **J. Assoc. Physicians India**, Bombay, v. 40, n. 1, p. 23-25, 1992.

- RODÉS, J.; ARROYO, V. The liver in urogenital diseases. In: McINTYRE, N.; BENHAMOU, J.-P.; BIRCHER, J.; RIZZETTO, M.; RODÉS, J. **Oxford textbook of clinical hepatology**. Oxford: Oxford University Press, 1991. v. 2, p. 1181-1187.
- ROMEO, J.M.; ULRICH, P.P.; BUSCH, M.P. et al. Analysis of hepatitis C virus RNA prevalence and surrogate markers of infection among seropositive voluntary blood donors. **Hepatology**, Baltimore, v. 17, n. 2, p. 188-195, 1993.
- ROSELLÓ, L.; FERNANDÉZ, E.; LOPEZ, J.C. et al. Hepatitis C in hemodialysis patients: prognosis and diagnostic value of transjugular liver biopsy. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEPHROLOGY (12.: 1993: Jerusalem). p. 394. Abstract.
- ROTH, D.; MILLER, J. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. **Clin. Transplantation**, Copenhagen, v. 7, p. 93-95, 1993.
- ROUSSINOV, D.; APOSTOLOVA, S.; ANADOLIISKA, A. et al. Prevalence of anti-HCV in children on maintenance hemodialysis. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEPHROLOGY (12. : 1993 : Jerusalem). **Anais...**, p. 392. Abstract.
- RUBIN, R.A.; FALESTINY, M.; MALET, P.F. Chronic hepatitis C: advances in diagnosis testing and therapy. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v. 154, n. 4, p. 387-392, 1994.
- RUIZ, J.; SANGRO, B.; CUENDE, J.I. et al. Hepatitis B and C viral infections in patients with hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, Baltimore, v. 16, n. 3, p. 637-641, 1992.
- RUMI, M.G.; COLOMBO, M.; GRINGERI, A. et al. High prevalence of antibody to hepatitis C virus in multitransfused hemophiliacs with normal transaminase levels. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 112, n. 5, p. 379-380, 1990.
- SACONATO, H.; LEÃO, M.D.; MEDEIROS, S.M. et al. Prevalência de marcadores virais das hepatites B e C em uma unidade de hemodiálise. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GASTROENTEROLOGIA (33.: 1994: Porto Alegre). **Anais...**, p. 96.
- SAKAMOTO, N.; ENOMOTO, N.; MARUMO, F. et al. Prevalence of hepatitis C virus infection among long-term hemodialysis patients: detection of hepatitis C virus RNA in plasma. **J. Med. Virol.**, New York, v. 39, n. 1, p. 11-15, 1993.
- SCHEUER, P.J. Non-A, non-B hepatitis. **Virchows Archiv. A. Pathol. Anat.**, Berlin, v. 415, p. 301-303, 1989. Editorial.

- SCHEUER, P.J. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 13, n. 3, p. 372-372, 1991.
- SCHEUER, P.J.; ASHRAFZADEH, P.; SHERLOCK, S. et al. The pathology of hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 15, n. 4, p. 567-571, 1992.
- SELGAS, R.; MARTINEZ-ZAPICO, R.; BAJO, M.A. et al. Prevalence of hepatitis C antibodies (HCV) in a dialysis population at one center. **Peritoneal Dialysis International**, Dowsview, Ontario, v. 12, p. 28-30, 1992.
- SHAKIL, A.D.; CONRY-CANTILENA, C.; ALTER, H.J. et al. Volunteer blood donors with antibody to hepatitis C virus : clinical, biochemical, virologic, and histologic features. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 123, n. 5, p. 330-337, 1995.
- SHERLOCK, S. **Diseases of the liver and biliary system**. 8. edition. Oxford : Blackwell Scientific Publications, 1989.
- SHERLOCK, S. Chronic hepatitis C. **D.M.**, St. Louis, v. 40, n. 3, p. 117-196, 1994.
- SHERLOCK, S.; DUSHEIKO, G. Hepatitis C virus update. **Gut**, London, v. 32, n. 9, p. 965-967, 1991.
- SHEU, J-C.; LEE, S-H.; WANG, J-T. et al. Prevalence of anti-HCV and HCV viremia in hemodialysis patients in Taiwan. **J. Med. Virol.**, New York, v. 37, n.2, p. 108-112, 1992.
- SHEV, S.; FOBERG, U.; FRYDEN, A. et al. Second-generation hepatitis C ELISA antibody tests confirmed by the four-antigen recombinant immunoblot assay correlate well with hepatitis C viremia and chronic liver disease in Swedish blood donors. **Vox Sang.**, Basel, v. 65, n. 1, p. 32-37, 1993.
- SHINDO, M., ARAI, K., SOKAWA, Y. et al. Hepatic hepatitis C virus RNA as a predictor of a long-term response to interferon-alpha therapy. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 122, n. 8, p. 586-591, 1995a.
- SHINDO, M.; ARAI, K.; SOKAWA, Y. et al. The virological and histological states of anti-hepatitis C virus-positive subjects with normal liver biochemical values. **Hepatology**, Baltimore, v. 22, n. 2, p. 418-425, 1995b.
- SILINI, E.; BONO, F.; CIVIDINI, A. et al. Differential distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with and without liver dysfunction abnormalities. **Hepatology**, Baltimore, v. 21, n. 2, p. 285-290, 1995.
- SIMMONDS, P. Variability of hepatitis C virus. **Hepatology**, Baltimore, v. 21, n. 2, p. 570-583, 1995.

- SIMMONDS, P., ALBERTI, A.; ALTER, H.J. et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotype. *Hepatology*, Baltimore, v. 19, n. 5, p. 1321-1324, 1994.
- SIMON, N.; COUROUCÉ, A.M., LEMARREC, N. et al. A twelve year natural history of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients. *Kidney Int.*, New York, v. 46, n. 2, p. 504-511, 1994.
- SIMONETTI, R.G., CAMMÀ, C.; FIORELLO, F. et al. Hepatitis C virus infection as a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: a case-control study. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 116, n. 2, p. 97-102, 1992.
- SIRCHIA, G.; BELLOBUONO, A.; GIOVANETTI, A. et al. Antibodies to hepatitis C virus in Italian blood donors [letter]. *Lancet*, London, v. 2, n. 8666, p. 797, 1989.
- SOOKOIAN, S.; CASTIGLIONI, T.; KINA, M. et al. Liver biopsy in anti-HCV (+) blood donors in Buenos Aires. *Hepatology*, Baltimore, v. 22, n. 4, pt. 2, p. 271A, 1995. Abstract.
- SOUTO, F.J.D.; OSAKI, K.S.; FORTES, H.M. et al. Prevalência do anti-HCV entre doadores de sangue do Hospital Universitário de Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GASTROENTEROLOGIA (33.: 1994: Porto Alegre). *Anais...*, p. 50.
- STEVENS, C.E.; TAYLOR, P.E.; PINDYCK, J. et al. Epidemiology of hepatitis C virus : a preliminary study in volunteer blood donors. *JAMA*, Chicago, v. 263, n. 1, p. 49-53, 1990.
- SUGITANI, M.; INCHAUSPÉ, G.; SHINDO, M. et al. Sensitivity of serological assays to identify blood donors with hepatitis C viraemia. *Lancet*, London, v. 339, n. 8800, p. 1018-1019, 1992.
- SZMUNESS, W.; PRINCE, A.M.; GRADY, G.F. et al. Hepatitis B infection: a point-prevalence study in 15 US hemodialysis centers. *JAMA*, Chicago, v. 227, n. 8, p. 901-906, 1974.
- TABONE, M.; GALATOLA, G.; SECRETO, P. et al. Serum levels of anti-hepatitis C virus IgM core antibodies may predict the response to interferon- α therapy in chronic hepatitis C. *J. Viral Hepatitis*, Oxford, v. 1, n. 2, p. 155-157, 1994.
- TABOR, E.; GERETY, R.J.; DRUCKER, J.A. et al. Transmission of non-A, non-B hepatitis from man to chimpanzee. *Lancet*, London, v. 1, n. 8062, p. 463-466, 1978.

- TAKAHASHI, M.; YAMADA, G.; MIYAMOTO, R. et al. Natural course of chronic hepatitis C. *Am. J. Gastroenterol.*, New York, v. 88, n. 2, p. 240-243, 1993.
- TAKAHASHI, C.; YOSHIDA, C.F.T.; GASPAR, A.M.C. et al. Ocorrência de hepatites não-A, não-B em unidade de hemodiálise. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 105-111, 1988.
- TAKANO, S.; OMATA, M.; OHTO, M. et al. Prospective assessment of donor blood screening antibody to hepatitis C virus and high-titer antibody to HBcAg as a means of preventing posttransfusion hepatitis. *Hepatology*, Baltimore, v. 18, n. 2, p. 235-239, 1993.
- THALER, M.M.; PARK, C-K.; LANDERS, D.V. et al. Vertical transmission of hepatitis C virus. *Lancet*, London, v. 338, n. 8758, p. 17-18, 1991.
- TONG, M.J.; EL-FARRA, N.S.; REIKES, A.R. et al. Clinical outcome after transfusion-associated hepatitis C. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 332, n. 22, p. 1463-1466, 1995.
- TREMOLADA, F.; CASARIN, C.; TAGGER, A. et al. Antibody to hepatitis C virus in post-transfusion hepatitis. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, v. 114, n. 4, p. 277-281, 1991.
- UYTTENDAELE, S.; CLAEYS, H.; MERTENS, W. et al. Evaluation of third-generation screening and confirmatory assays for HCV antibodies. *Vox Sang.*, Basel, v. 66, n. 2, p. 122-129, 1994.
- VAN DER POEL, C.L. Hepatitis C virus: into the fourth generation. *Vox Sang.*, Basel, v. 67, Suppl. 3, p. 95-98, 1994.
- VAN DER POEL, C.L.; CUYPERS, H.T.M.; REESINK, H.W. et al. Confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet*, London, v. 337, n. 8737, p. 317-319, 1991.
- VANDELLI, L.; MEDICI, G.; SAVAZZI, A.M. et al. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) antibodies in haemodialysis patients. *Arch. Virol. Suppl.*, v. 4, p. 339-342, 1992.
- WARNOCK, L.G.; STONE, W.J.; WAGNER, C. Decreased aspartate aminotransferase ("SGOT") activity in serum of uremic patients. *Clin. Chem.*, Washington, v. 20, n. 9, p. 1213-1216, 1974.
- WEILAND, O.; SCHVARCZ, R. Hepatitis C: virology, epidemiology, clinical course and treatment. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v. 27, n. 5, p. 337-342, 1992.

- WOLF, P.L.; WILLIAMS, D.; COPLON, N. et al. Low aspartate transaminase activity in serum of patients undergoing to chronic hemodialysis. **Clin. Chem.**, v. 18, n. 6, p. 567-568, 1972.
- YOSHIDA, C.F.T.; VANDERBORGHT, B.O.M.; STUYVER, L. et al. Tracing non-transfusional transmission of HCV infection through genomic typing of HCV in hemodialysis unit. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF NEPHROLOGY (12. : 1993 : Jerusalem). **Anais...**, p. 314.
- YOSHIOKA, K.; KAKUMU, S.; WAKITA, T. et al. Detection of hepatitis C virus by polymerase chain reaction and response to interferon-alpha therapy: relationship to genotypes of hepatitis C virus. **Hepatology**, Baltimore, v. 16, n. 2, p. 293-299, 1992.
- YUKI, N.; HAYASHI, N.; TAKEHARA, T. et al. Serum hepatitis C virus RNA levels and liver injury in volunteer blood donors. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 89, n. 9, p. 1462-1466, 1994.
- ZAAIJER, H.L.; CUYPERS, H.T.M.; REESINK, H.W. et al. Reability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. **Lancet**, London, v. 341, n. 8847, p. 722-724, 1993.
- ZANELLA, A.; CONTE, D.; PRATI, D. et al. Hepatitis C virus RNA and liver histology in blood reactive to a single antigen by second-generation recombinant immunoblot assay. **Hepatology**, Baltimore, v. 21, n. 4, p. 913-917, 1995.
- ZANETTI, A.R.; TANZI, E.; PACCAGNINI, S. et al. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. **Lancet**, London, v. 345, p. 289-291, 1995.
- ZELDIS, J.B.; DEPNER, T.A.; KURAMOTO, I.K. et al. The prevalence of hepatitis C virus antibodies among hemodialysis patients. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 112, n. 12, p. 958-960, 1990.
- ZHANG, Y.F.; ZHANG-KECK, Z.-Y.; LINNEN, J. et al. Proteolytic processing of the polyprotein of a newly discovered human RNA virus associated with hepatitis. **Hepatology**, Baltimore, v. 22, n. 4, pt. 2, p. 181A, 1995.